

INMUNOHEMATOLOGÍA

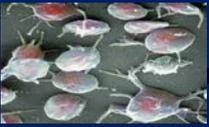
PLAQUETARIA



Dra. Clapsos Rosana

Unidad de Estudios Inmunoematológicos

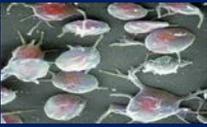
Instituto de Hemoterapia de la Pcia. de Bs. As. - Centro Regional La Plata



PLAQUETAS

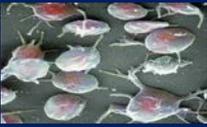
- ▶ Célula progenitora : Megacariocito
- ▶ Tamaño: entre 2 a 5 μm .
- ▶ Proceso de hemostasia en cuatro fases:
 - adhesión
 - reacción de liberación
 - agregación
 - actividad procoagulante

- ▶ Membrana plaquetaria: **GLICOPROTEINAS (GP)** que se asocian entre ellas formando complejos que actúan como receptores, que median dos importantes funciones:
 - adhesión al subendotelio
 - adhesión plaqueta a plaqueta (agregación plaquetaria)



Glicoproteínas de la membrana plaquetaria

Designación	Peso molecular	Forma complejo con	Interac. con el citoesqueleto	Función
Ia	153.000	Ila	Si	Rc. de colágeno
Ib	170.000	IX	Sí	Rc. de Factor vW
Ic	148.000	Ila	?	Rc. Fibronectina
Ila	130.000	Ia, Ic	Sí	-
Ilb	136.000	IIla	Sí	Rc. Fibrinógeno
IIla	95.000	Ilb	Sí	vW, Fibronectina y vitronectina.
IV	95.000	-	-	Trombospondina
V	82.000	-	-	Sustrato trombina
IX	17.000	Ib	-	Union con Ac. Drogadependiente



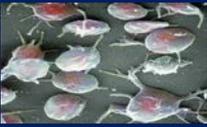
ANTIGENOS PLAQUETARIOS

Antígenos no específicos: son aquellos que se expresan en las plaquetas y en otras líneas celulares:

- **Antígenos ABO:** las plaquetas tienen antígenos A y B controlados por *gen H*, independientes de los genes secretores y Lewis.
 - la expresión es variable y en ocasiones muy débil.
 - su localización se asigna a las GP IIa, IIIa y Ib.
 - importancia transfusional variada.

- **Antígenos Lewis, li y P:** son adsorbidos íntegramente del plasma.
 - están presentes solo en pequeñas cantidades.
 - nula significación clínica transfusional.

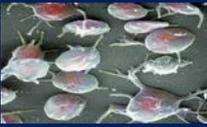
- **Antígenos HLA:** son intrínsecos, sintetizados endógenamente.
 - están presentes solo los de **Clase I** (A y B, los C en menor cantidad).
 - gran significación clínica transfusional (refractariedad plaquetaria y las reacciones febriles postransfusionales).



ANTIGENOS PLAQUETARIOS

Antígenos específicos: son aquellos que se expresan únicamente en las plaquetas :

- Desde 1990 se propuso una nomenclatura uniforme HPA (*Human platelet antigen*) para designar a cada sistema.
- Son sistemas bialélicos, y los antígenos son identificados con las letras a y b.
- Cada sistema antigénico está asociado con glicoproteínas (GPs).
- Estos sistemas tienen una distribución diferente según población.

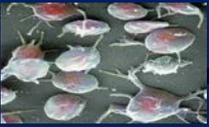


SISTEMAS HPA (*Human Platelet Antigens*)

- **IPD**: The Immuno Polymorphism Database que fue creado en el 2003 para proveer un sistema centralizado para el estudio del polimorfismo en genes del sistema inmune, con la colaboración del European Bioinformatics Institute (EBI).

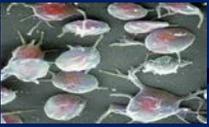
www.ebi.ac.uk/ipd

- **IPD-HPA Database** : es un sistema centralizado que define los ag. HPA. Fue desarrollado en 1990 y revisado en 2003.

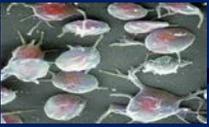


SISTEMAS HPA (*Human Platelet Antigens*)

Sistemas	Antígenos	Nombres alternativos	Frecuencia	Glicoproteína
HPA-1	HPA-1a	Zw ^a , P1 ^{A1}	97.9%	GP III a
	HPA-1b	Zw ^b , P1 ^{A2}	28.8%	
HPA-2	HPA-2a	Ko ^b	>99.9%	GP I b
	HPA-2b	Ko ^a , Sib ^a	13.2%	
HPA-3	HPA-3a	Bak ^a , Lek ^a	80.95%	GP II b
	HPA-3b	Bak ^b	69.8%	
HPA-4	HPA-4a	Yuk ^b , Pen ^a	>99.9%	GP III a
	HPA-4b	Yuk ^a , Pen ^b	<0.1%	
HPA-5	HPA-5a	Br ^b , Zav ^b	99.0%	GP I a
	HPA-5b	Br ^a , Zav ^a	19.7%	

**SISTEMAS HPA (*Human Platelet Antigens*)**

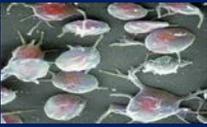
Sistemas	Antígenos	Nombres alternativos	CD	Glicoproteína
	HPA-6bw	Ca ^a , Tu ^a	CD 61	GP IIIa
	HPA-7bw	Mo ^a	CD 61	GP IIIa
	HPA-8bw	Sr ^a	CD 61	GP IIIa
	HPA-9bw	Max ^a	CD 41	GP IIb
	HPA-10bw	La ^a	CD 61	GP IIIa
	HPA-11bw	Gro ^a	CD 61	GP IIIa
	HPA-12bw	Iy ^a	CD 42c	GP Ib
	HPA-13bw	Sit ^a	CD 49b	GP Ia



SISTEMAS HPA (*Human Platelet Antigens*)

año 2008

Sistemas	Antígenos	Nombre original	CD	Glicoproteína
	HPA-14bw	Oe ^a	CD 61	GP IIIa
HPA-15	HPA-15a HPA- 15b	Gov ^b Gov ^a	CD 109	CD 109
	HPA-16bw	Duv ^a	CD 61	GP III a
	HPA-17bw	Va ^a	CD 61	GP IIb/IIIa



SISTEMAS HPA (*Human Platelet Antigens*)

año 2012

Nuevos antígenos plaquetarios :

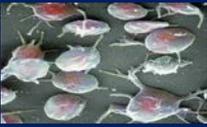
-**HPA-22bw & 23bw**

-**HPA-24bw** (Cab2); TRANSFUSION Volume 51, February 2011 p393-
Jallu et al

-**HPA-25bw** (Swi(a)); TRANSFUSION Volume 51, August 2011 p1745-
Kroll et al.

-**HPA-26bw** (Sec(a)); see the paper in Thrombosis and Haemostasis
online 107.1/2012 Sachs et al.

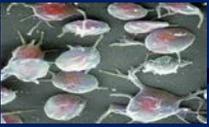
- **HPA-27bw** (Cab3,Ak);



Frecuencia de los antígenos plaquetarios en diversas poblaciones y grupos étnicos (en %)

HPA	España Muñiz-Diaz 1998	Holanda Simsek 1993	Finlandia Kekomaki 1995	USA Kim 1995	Japón Tanaka 1996	Corea Seo 1998
HPA -1a *	96.02	97.9	99	98	100	99.5
HPA -1b	33.83	28.8	26.5	20	0.30	2
HPA -2a	99.79	100	99	97	99.2	99
HPA -2b	18.4	13.5	16.5	15	19.7	14
HPA -3a	86.71	81	83.5	88	85.1	82.5
HPA -3b	55.59	69.8	66.5	54	66.2	71.5
HPA -4a	100	100		100	100	100
HPA -4b	0	0		0	2	2
HPA -5a	99.34	100	99.50	98	99	100
HPA -5b	24.51	0	10	21	7	4.5

- * HLA-DRB3*0101: gen asociado a HPA 1a negativos que sintetizan acs. Anti-HPA 1a (50% de caucásicos y 3.8% en asiáticos).
- HPA- 15 a (Gov): descriptos casos de sensibilización en caucásicos .



Frecuencia de los antígenos plaquetarios en diversas poblaciones y grupos étnicos (en %)

• Human platelet-specific antigens frequencies in the Argentinean population

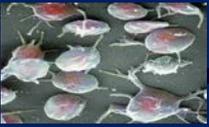
C.D. De La Vega Elena, N. Nogues, A. Fernandez Montoya, S. Chialina, P.D. Blanzaco, E. Theiller, M. A. Raillon, N. Arancegui, E. Solis, S. Oyonarte, V. Crespo Ferrer, A. Campos Muñoz, E. Muñoz-Diaz.

Transfusion Medicine, 18: 83-90, 2008

	Nº	HPA 1a	HPA 1b	HPA 2a	HPA 2b	HPA 3a	HPA 3b	HPA 4a	HPA 4b	HPA 5a	HPA 5b	HPA 6a	HPA 6b	HPA 15a	HPA 15b
Donantes	192	0.87	0.12	0.87	0.12	0.61	0.38	1	0	0.9	0.07	1	0	0.51	0.48
Tobas	27	1	0	0.94	0.05	0.38	0.61	1	0	1	0	1	0	0.68	0.31

• Método: PCR-SSP

- Es el primer reporte de frecuencia de alelos en población argentina

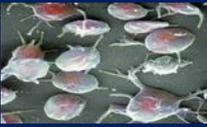


Importancia clínica de los antígenos y anticuerpos plaquetarios

- TROMBOCITOPENIA ALLOIMUNE NEONATAL

- PURPURA POSTRANSFUSIONAL

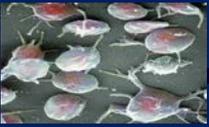
- REFRACTARIEDAD PLAQUETARIA



Importancia clínica de los antígenos y anticuerpos plaquetarios

Autoanticuerpos

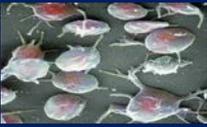
- En pacientes con Púrpura Trombocitopénica Autoinmune.
- Se han eluído autoanticuerpos contra GP IIb-IIIa.; GP Ib; GP Ia



Importancia clínica de los antígenos y anticuerpos plaquetarios

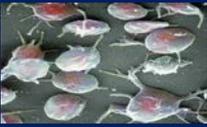
TROMBOCITOPENIA ALLOINMUNE

FETAL/NEONATAL (TAFN)



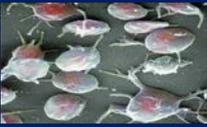
TROMBOCITOPENIA ALLOIMUNE FETAL/NEONATAL (TAFN)

- Frecuencia : 1 caso cada 1.200 a 2000 R.N.
1 caso cada 800 a 1000 R.N (año 2010)
- La trombocitopenia conlleva el desarrollo de hemorragia intracraneal en un 10-20%.
(ISBT 2008 1:12500 – 25000 RN con TAN sufren hemorragia intracraneal).
- En un 50% de los casos se produce en la primera gestación
- 90% de recurrencia en las siguientes gestaciones .



TROMBOCITOPENIA ALOINMUNE FETAL/NEONATAL (TAFN)

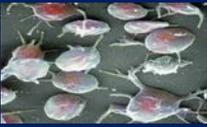
- Aloiinmunización frente : - **Ag. HPA-1a** (75-85% de los casos) y HPA-3a : los casos más severos
 - **Ag. HPA-5b** (10%) trombocitopenia más moderada. En Brasil.
 - **Ag. HPA-4b**: en Japón.
 - **Ag. HPA-15**: pueden producir anemia (las células CD34 + también expresan la proteína CD 109).
 - **Ag. de baja frecuencia**: revalorizar la compatibilidad con las plaquetas del padre del neonato.
 - Antígenos ABO y HLA.



TROMBOCITOPENIA ALLOIMUNE FETAL/NEONATAL (TAFN)

Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. Kaplan-Gouet. XXXI International Congress of the ISBT. Berlin. 2010.

- **Hemorragia intracraneal:**
 - 80% in útero
 - 40% en la semana 30 de gestación.
- HPA -1a : 25.5% de los casos reportados
- HPA- 3a : 24 %
- HPA- 5b : 15%
- 🚑 causa 10% de muertes
- 🚑 20% de secuelas neurológicas



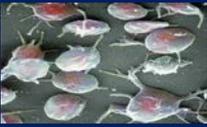
TROMBOCITOPENIA ALLOIMUNE FETAL/NEONATAL (TAFN)

Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. Kaplan-Gouet. XXXI International Congress of the ISBT. Berlin. 2010.

- **Cuadro clínico:** (madre sana, no drogas durante el embarazo)
 - RN sano con purpura cutánea, en los casos más graves : hemorragias
 - recuento plaquetario variable: $< 20 \times 10^9/L$ en los casos graves
 - recuento plaquetario tiende a disminuir en las primeras 24-72hs.

DIAGNOSTICO

- Excluir otras causas de trombocitopenia:
 - Infecciones víricas o bacterianas
 - Coagulopatías de consumo
 - Transtornos de megacariocitopoyesis
 - Hemangiomas
 - Autoinmunidad materna (PTI, Lupus)

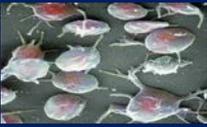


TROMBOCITOPENIA ALLOIMUNE FETAL/NEONATAL (TAFN)

Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. Kaplan-Gouet. XXXI International Congress of the ISBT. Berlin. 2010.

DIAGNOSTICO SEROLOGICO

- Demostrar la presencia de un aloanticuerpo plaquetario específico en el suero materno.
- Evidenciar incompatibilidad HPA materno – fetal :
 - ags. raros (HPA-9bw en 2% de los casos)
 - diversidad étnica
- El estudio debe incluir genotipificación plaquetaria de los padres y RN.

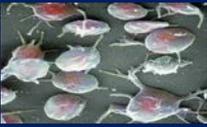


Tratamiento de T.A.F.N.

Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. Kaplan-Gouet.

XXXI International Congress of the ISBT. Berlin. 2010.

- Plaquetas maternas
- Donantes genotipados
- Plaquetas *random* (Kiefel 2006):
 - Efectos transitorios
 - Inefectivo en un n° de casos
- Plaquetas *random* y IVIgG
- Ecografías



Manejo antenatal de T.A.F.N.

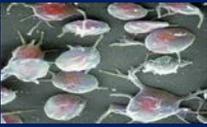
Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. Kaplan-Gouet. XXXI International Congress of the ISBT. Berlin. 2010.

- Terapia maternal:

IVIgG (1g/Kg por semana : 22-39 sem. Gestación) + esteroides

- Toxicidad

- Impacto económico

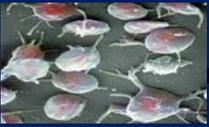


Protocolo de estudio y tratamiento de T.A.F.N.

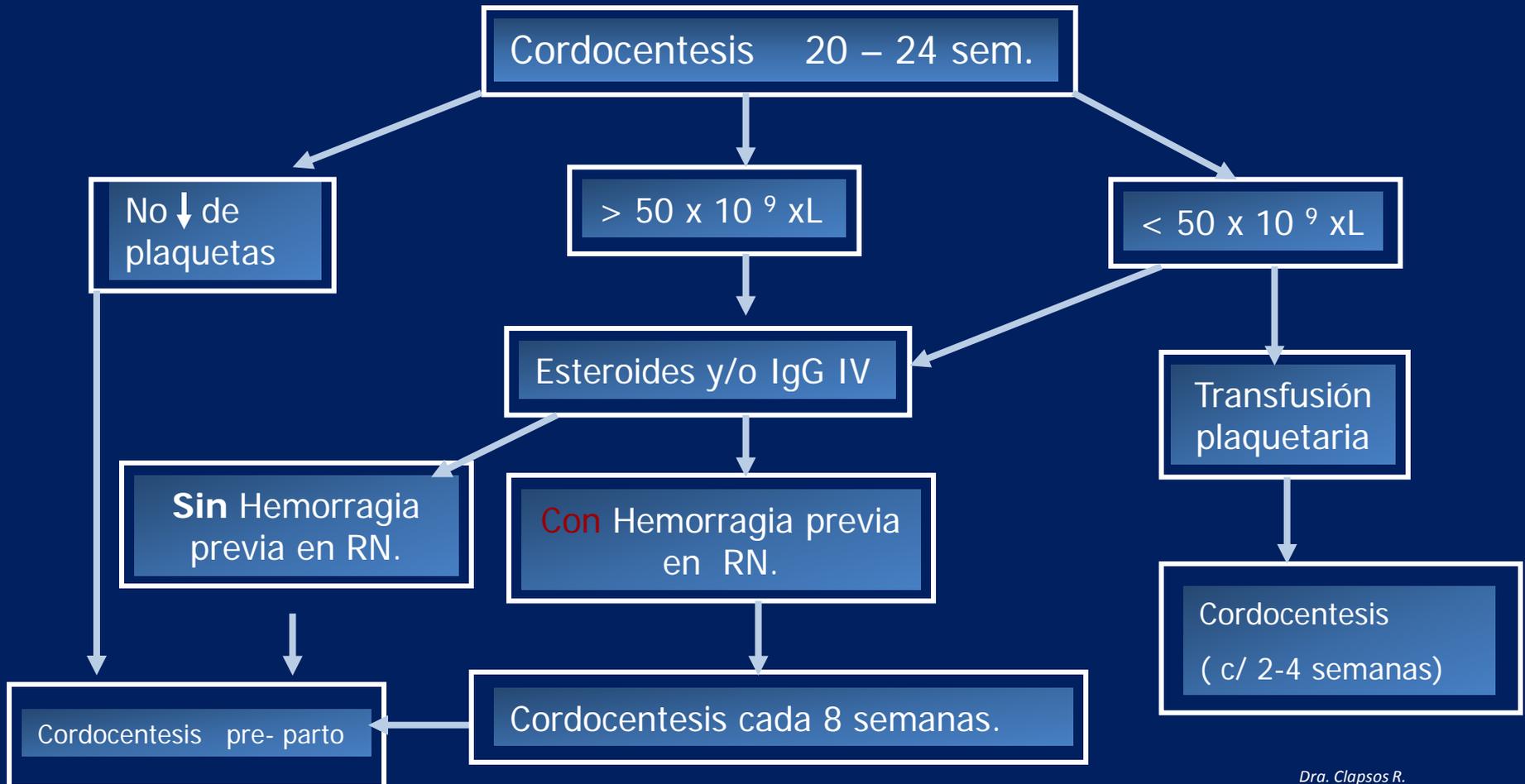
9º Simposium europeo de Inmunobiología de plaquetas y granulocitos .

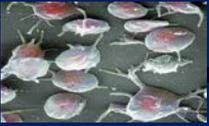
Noruega(Vox Sanguinis sep-2006)

- Sobre un total de 100.448 embarazadas se tipificó HPA 1a: el 2.1% fue HPA 1a negativo y sobre ellas el 10,6 % presentaba anticuerpos.
- La incompatibilidad materno-fetal ABO debería considerarse como causa de TAN cuando la búsqueda de acs. plaquetarios específicos resulte negativa.
- **Noruega**, Escocia, Egipto :
 - 1- Tipificación HPA -1a a todas las embarazadas.
 - 2- Si es HPA-1a negativo → hacer ag. HPA 1a al esposo.
 - 3- D. A. P. → NEGATIVA : parto normal , control por cordón.
 - 4- D. A. P. → POSITIVA : cesárea en la semana 36-38 , control por cordón y si el recuento es menor a 35×10^9 L → transfundir plaquetas compatibles.



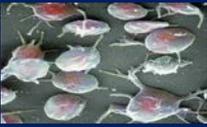
Protocolo de estudio y tratamiento de T.A.N.





Importancia clínica de los antígenos y anticuerpos plaquetarios

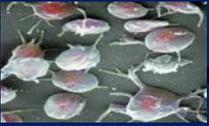
PURPURA POSTRANSFUSIONAL



Importancia clínica de los antígenos y anticuerpos plaquetarios

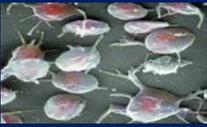
PURPURA POSTRANSFUSIONAL

- Trombocitopenia aguda grave , aproximadamente una semana después de la transfusión de cualquier componente sanguíneo.
- Patogenia no conocida (aloinmunización frente al Ag. HPA-1a)
- Mujeres entre 60-70 años de edad y con antecedentes gestacionales.
- Tratamiento: IgG IV y/o recambio plasmático en los casos muy graves . La transfusión de plaquetas compatibles resulta inefectiva.
- Tras la recuperación, no vuelve a repetirse esta complicación.



Importancia clínica de los antígenos y anticuerpos plaquetarios

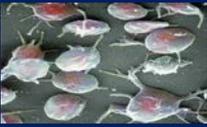
REFRACTARIEDAD PLAQUETARIA



Importancia clínica de los antígenos y anticuerpos plaquetarios

REFRACTARIEDAD PLAQUETARIA

- Fallo en el incremento postransfusional esperado después de dos transfusiones de plaquetas sucesivas ABO compatibles , de menos de 72 hs de almacenamiento.
- La especificidad mas frecuente es anti-HLA clase I y en menor proporción contra antígenos plaquetarios específicos.
- Entre el 20 – 70% de pacientes politransfundidos.
- Diagnóstico: - **I.C.** : $\frac{(\text{recuento post.} - \text{recuento pret.}) \times \text{sup. corp. en m}^2}{\text{N}^\circ \text{ de plaquetas transfundidas (} \times 10^{11} \text{)}}$
- REFRACTARIEDAD: cuando I.C. es $< 7.5 \times 10^9/\text{L}$ a la hora o < 4.5 a las 24 hrs
 - Incremento absoluto en adultos: $2000 / 1,76 \text{ m}^2 / \text{U}$ de plaq.
 - Incremento absoluto en niños: $3500 / \text{m}^2 / \text{U}$ de plaq



Importancia clínica de los antígenos y anticuerpos plaquetarios

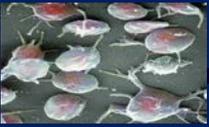
REFRACTARIEDAD PLAQUETARIA

▪ Causas NO inmunológicas de R.P.:

- Hemorragia activa
- Sepsis
- C.I.D.
- Envejecimiento de plaquetas transf.
- Anfotericina B, Vancomicina, Heparina
- Fiebre
- Esplenomegalia (secuestro)
- T.M.O.
- Almacenamiento inadecuado
- P.T.T.

▪ Causas Inmunológicas:

- Anticuerpos ABO
- Anti- HLA, contra antígenos específicos de plaquetas.
- Anticuerpos dependientes de drogas
- Autoanticuerpos, complejos inmunes



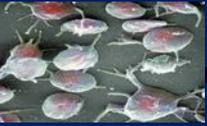
Importancia clínica de los antígenos y anticuerpos plaquetarios

REFRACTARIEDAD PLAQUETARIA

- Como prevenir la aloinmunización contra plaquetas:

La mejor manera de manejar la aloinmunización contra plaquetas es previniendo que esta ocurra:

- El uso de plaquetas pobres en leucocitos.
- Plaquetas irradiadas con UV.
- El uso de plaquetas de un solo donante ayuda en la prevención de aloinmuniz.



Importancia clínica de los antígenos y anticuerpos plaquetarios

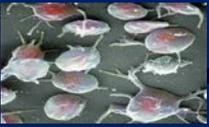
REFRACTARIEDAD PLAQUETARIA

■ Manejo del paciente aloinmunizado

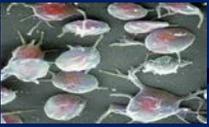
- Aumentar la dosis y acortar los intervalos de administración
- Administrar concentrados de plaquetas frescos, ABO compatibles
- Administrar concentrados HLA compatibles

■ Alternativas:

- Administración de IVIgG (inmunoglobulina intravenosa).
- Medicamentos inmunosupresores.

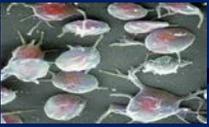


Laboratorio de inmunohematologia plaquetaria



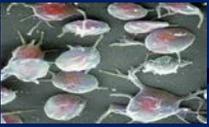
Deteccion de Anticuerpos plaquetarios

- TAIFN
- Purpura Post Transfusional
- Refratariedad Plaquetaria



Métodos de laboratorio

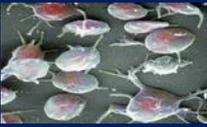
- Fase I
- Fase II
- Fase III



Métodos de laboratorio

Métodos de Fase I

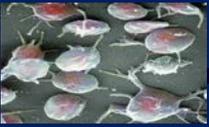
- 1950-1970
- Basados en la unión Ag-Ac induciendo un cambio en las plaquetas comparándolo con testigos normales.
- Linfocitotoxicidad



Métodos de laboratorio

Métodos de Fase II

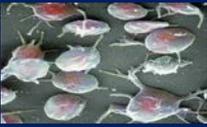
- A partir de 1970
- Miden IgG asociadas a plaquetas específicas o inespecíficas adheridas a la membrana plaquetaria.
- IF (Fluoresceína)
- RIA (isotopo radiactivo)
- ELISA (Enzima)
- Métodos de captura: - Métodos en fase sólida
- MASPAT



Métodos de laboratorio

Métodos de Fase II

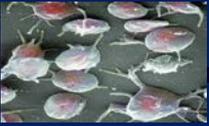
- Directos : Miden Ac asociados in vivo a las plaquetas del paciente
- Indirectos: Miden unión del Ac del suero del paciente sobre la superficie plaquetaria.



Métodos de laboratorio

Métodos de Fase III

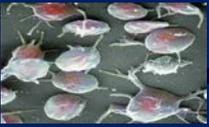
- A partir de 1980
- Detectan Ac contra glicoproteínas específicas de membrana
- MAIPA (inmovilización de Ag plaquetarios específicos con Ac monoclonales)
- PCR



MASPAT

Técnica de adherencia eritrocitaria en fase sólida (MASPAT)

- Monocapa de plaquetas de donante inmovilizada por centrifugación a la superficie de los pocillos recubiertos de Ac monoclonales de ratón plaqueta -específicos.



Técnica de adherencia eritrocitaria en fase sólida (MASPAT)

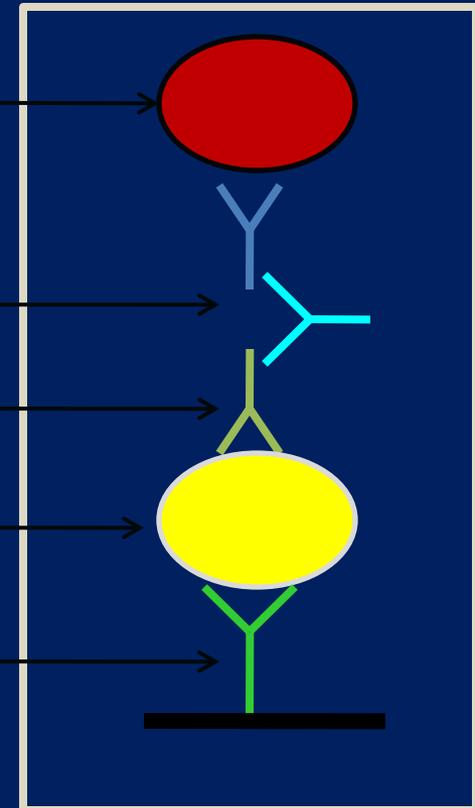
GR humanos sensibilizados con IgG

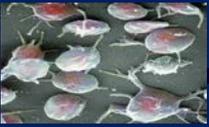
Anti-IgG humana

Ac. Plaquetario del suero del paciente

Plaquetas del donante

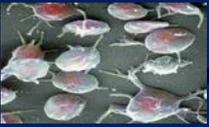
Ac. Monoclonal plaqueta-específico





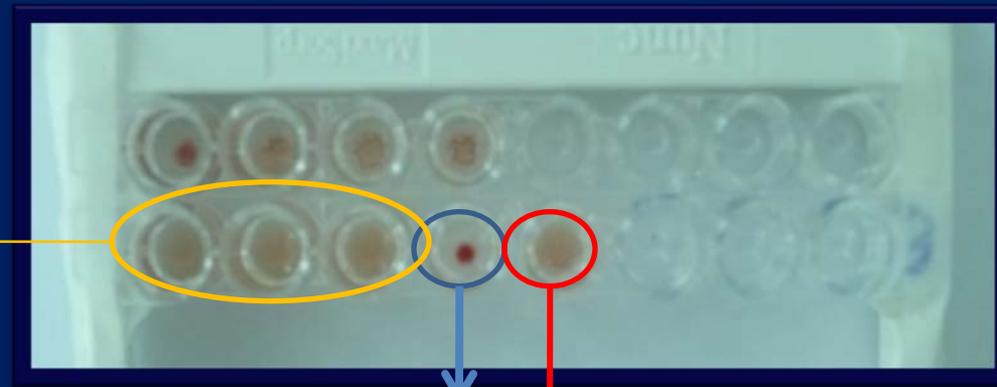
MASPAT

- Muestra: suero, SE con EDTA
- PRP : donantes de grupo (ABO): O
- PBS: Solución de lavado
- Centrífuga para microplacas
- Incubador seco 37 °C
- Cloroquina



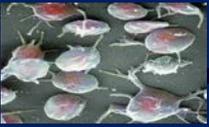
MASPAT

Reacción positiva ←



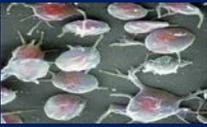
Ctl. neg

Ctl. Post.



Conclusiones

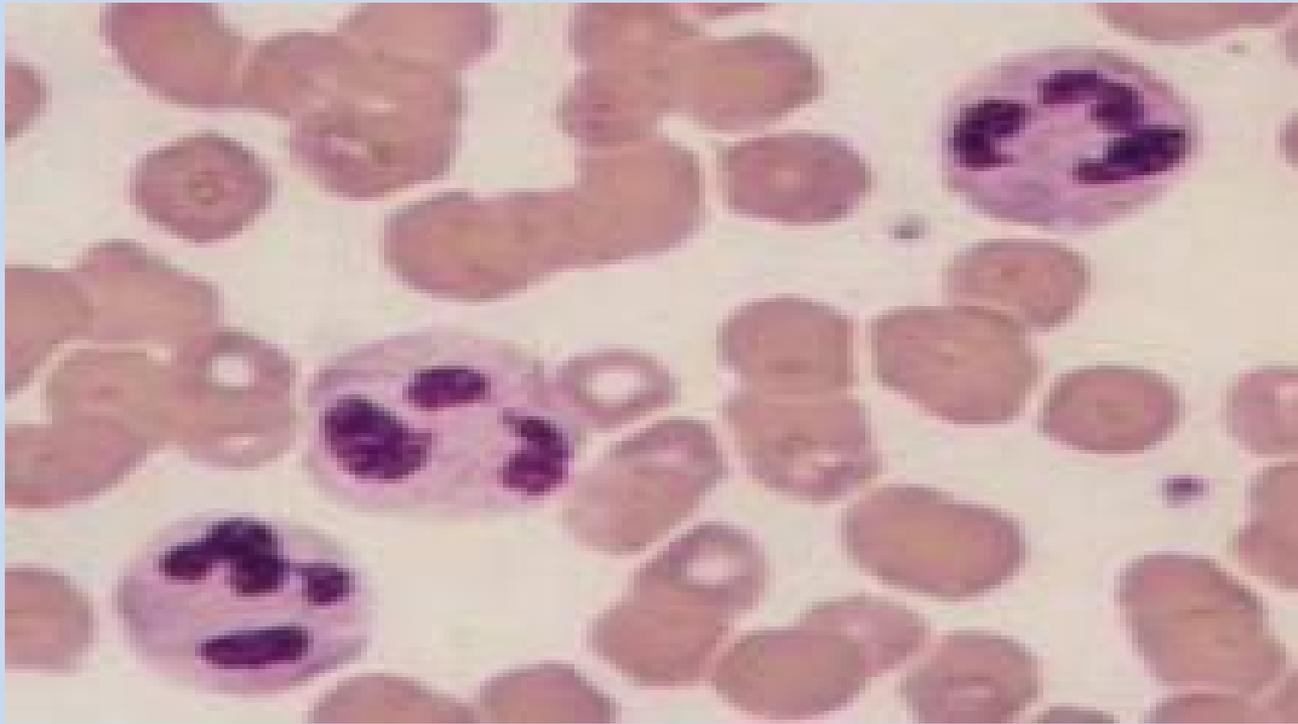
- Contribuye al diagnóstico de aloinmunización plaquetaria.
- Permite la búsqueda de concentrados plaquetarios compatible.
- Permite la individualización de embarazadas con potencial desarrollo de TAIN.

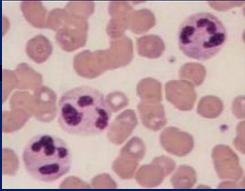


Pruebas de Detección de Anticuerpos y Compatibilidad

Células Rojas	Plaquetas
<p><u>Orden Pre-transfusión:</u></p> <ul style="list-style-type: none">• ABO y Rh• Screening de anticuerpos	<p><u>Orden Pre-transfusión:</u></p> <ul style="list-style-type: none">- Ninguna <p>-Son ordenadas cuando el paciente demuestra signos de plaquetopenia por anticuerpos.</p>
<ul style="list-style-type: none">• Prueba de Compatibilidad: <p>- Estas pruebas son realizadas antes de la transfusión.</p> <p>- Estas pruebas son exitosas detectando anticuerpos clínicamente significativos IgG. Estas pruebas son:</p> <ul style="list-style-type: none">◆ fáciles◆ rápidas◆ relativamente no costosas◆ costo-eficiente prediciendo el resultado de la transfusión	<p>-No hay un protocolo establecido pero las pruebas de compatibilidad plaquetaria deben ser capaces de detectar anticuerpos HLA y plaqueta-específicos:</p> <ul style="list-style-type: none">◆ Linfocitotoxicidad◆ Fase sólida◆ MAIPA◆ ELISA <p>Otros métodos</p> <ul style="list-style-type: none">◆ ELISA◆ Inmunofluorescencia◆ Radioinmunoensayo

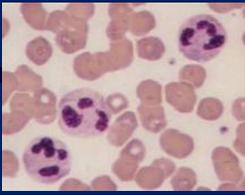
INMUNOHEMATOLOGÍA DE GRANULOCITOS





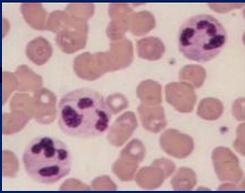
GRANULOCITOS

- Sistema **HLA**
- Sistemas **Específicos** de neutrófilos



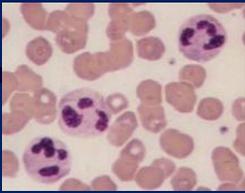
SISTEMAS ANTIGENICOS GRANULOCITARIOS- HNA

Sistema Antigénico	Antigenos	Nombre	Frecuencias %	Glicoproteína
HNA-1	HNA-1a HNA-1b HNA-1c	NA1 NA2 SH	52-54 87-89 5-7	FcyRIIIb
HNA-2	HNA-2a	NB1	87-97	Gp50-64 GPI CD177
HNA-3	HNA-3a HNA-3b	5b 5a	89-99	Gp70-95 CLT2
HNA-4	HNA-4a HNA-4b	96		MAC1;CR3; α M β ₂ -integrin. CD11b
HNA-5	HNA-5a HNA-5b	96		LFA-1; α ₁ β ₂ - integrin. CD11a



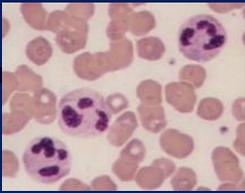
IMPORTANCIA CLINICA DE LOS ANTIGENICOS GRANULOCITARIOS- HNA

- Neutropenia aloimmune neonatal (NAN/ NAFN)
- Neutropenias autoinmunes
- Neutropenia inmune medicamentosa
- Reacciones transfusionales (TRALI)
- Neutropenias inmunes postrasplante de CPH
- Asociación con enfermedades



NEUTROPENIA NEONATAL ALOINMUNE

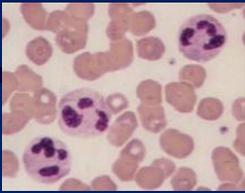
- Disminución de Neutrofilos fetales
- Infecciones bacterianas
- Sistema:
 - HNA-1(NA1,NA2,SH)
 - HNA-2a(NB1)
 - HNA-3a (5b)
 - HNA-4a (Marta)
 - HNA-5a (Ond).
- Anticuerpos anti HLA ?
- Incidencia 1 /500-2000



NEUTROPENIA NEONATAL ALOINMUNE

Diagnostico serològico

- Anticuerpos en el suero de la madre
- Prueba cruzada con neutrófilos del padre
- Inmunofluorescencia, GIFT/Flow GIFT.
- Interferencia por anticuerpos anti HLA
 - Absorción con plaquetas.
 - MAIGA (monoclonal antibody immobilization GA)
- Tipaje y /o Genotipaje (PCR-SSP)

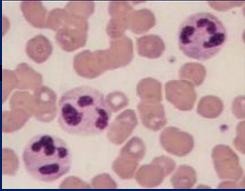


NEUTROPENIA NEONATAL ALOINMUNE

Diagnostico serològico

Descartar **autoanticuerpos** en la madre

- Hemograma
- Test directo granulocitario.
- Autorreactividad
- Anticuerpos en suero sin especificidad.



GIFT/Flow GIFT

Test Directo

Granulocitos de la madre y Testigos

+

Antiglobulinas marcadas con
fluoresceína



Lectura de la **fluorescencia**



GIFT/Flow GIFT

Test de **Autorreactividad**

Granulocitos de la madre

+

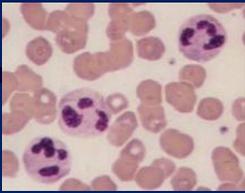
Suero de la madre / sueros negativos y positivos



Antiglobulinas marcadas con **fluoresceína**

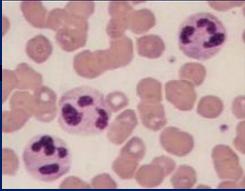


Lectura de la **fluorescencia**



NEUTROPENIA NEONATAL ALOINMUNE

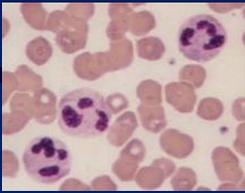
- La neutropenia neonatal por aloanticuerpos específicos de neutrófilos es una entidad muy poco frecuente, cursa con neutropenia grave que aparece precozmente después del nacimiento.
- Para el diagnóstico serológico es importante que el estudio se haga en los primeros días posparto.
 - El tratamiento de elección es la cobertura antibiótica de las complicaciones, acompañada o no de IgIV y o G-CSF.
- La neutropenia se recupera generalmente en pocos días, aunque puede persistir durante varios meses.



TRALI

Injuria pulmonar aguda relacionada con transfusión

- Reacción aguda dentro de las 2-6 hs. después de una transfusión de un hemocomponente que contiene plasma.
- Síntomas: disnea, hipo o hipertensión, edema pulmonar no cardiogénico.
- Infiltración bilateral en Rx.
- Ac. específicos de granulocitos (HNA-3a) y HLA en el donante (10% también en el receptor).
 - El tratamiento sintomático y acompañado o no de IgIV .
- Recomendaciones de la ISBT: - screening de donantes de acs. Leucocit.
- identificación de aloinmunización en donantes y receptores.



Recomendaciones de la ISBT- Working Party

Técnicas para la detección de anticuerpos antigranulocitarios

Detectar Acs. contra:

- HNA (HNA-1a, -1b, -2 y HNA -3a) :
 - Granulocitoaglutinación, GAT (HNA-3a)
 - Inmunofluorescencia GIFT, microscopia/ citometría.

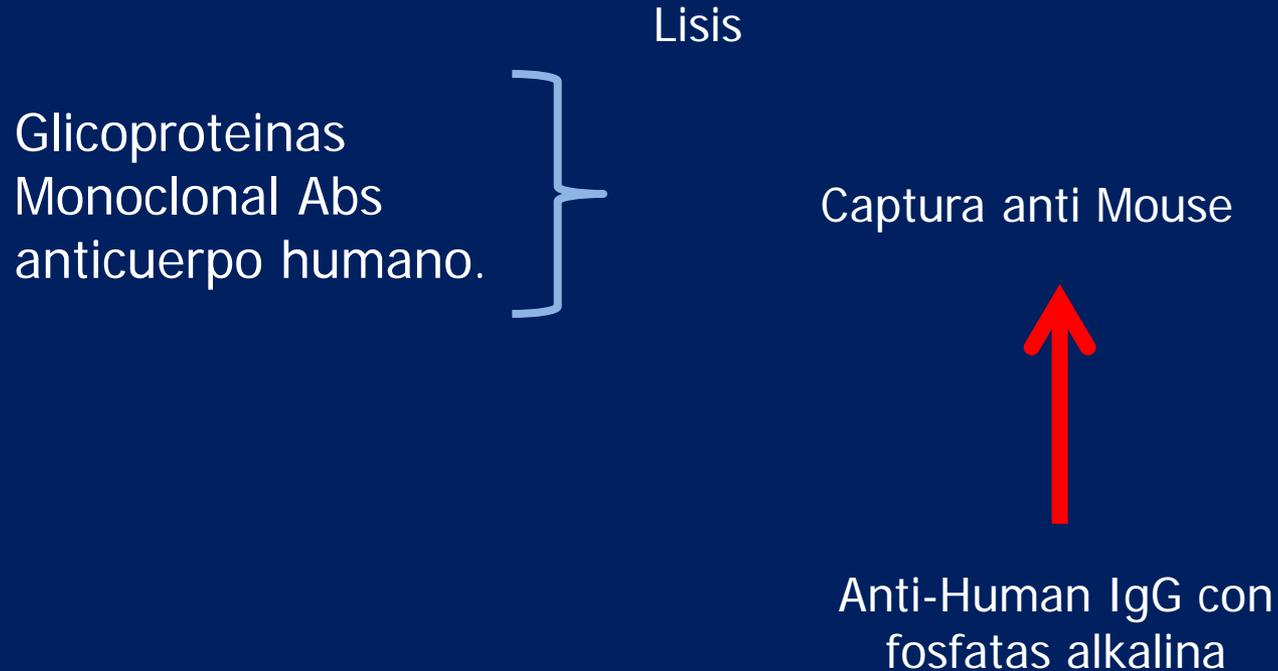
- HLA I y II:
 - Enzaimmunoensayo
 - Citometría de flujo

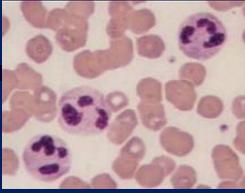
- **MAIGA**: granulocitos + suero + ac. monoclonal frente a una glicoproteína de la membrana del granulocito, tras lavar el lisado obtenido es inmovilizado sobre una microplaca .



MAIGA

Neutrófilos + suero + Monoclonal Abs

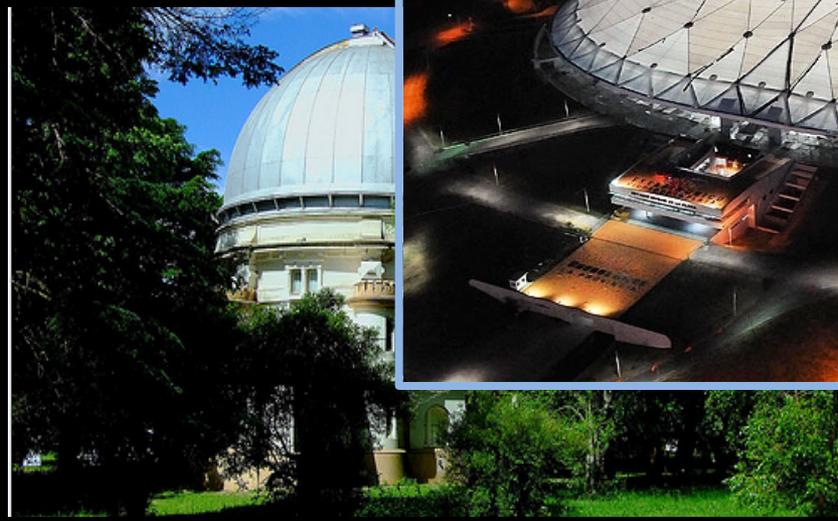
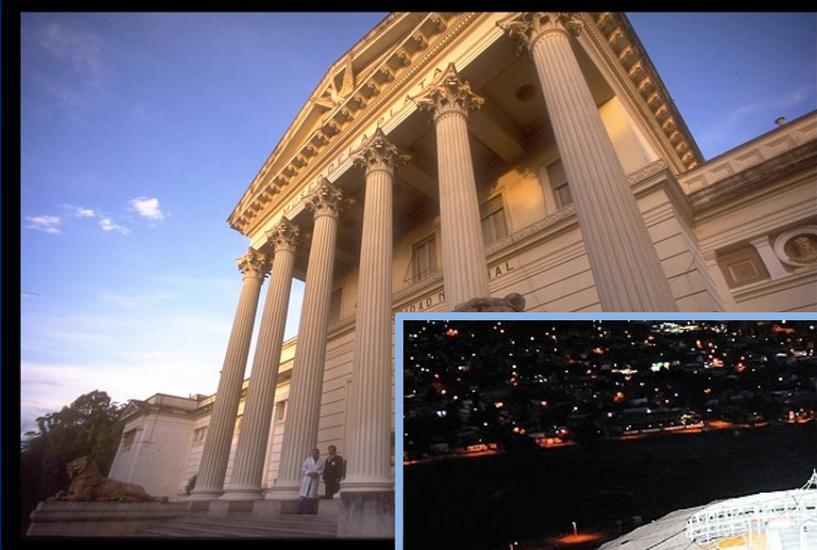




LUMINEX

Recientemente se ha incorporado la **tecnología Luminex ampliamente utilizada para los Anticuerpos anti-HLA**, en la detección de anticuerpos anti-HNA con resultados al parecer muy prometedores. Se usan microparticulas con diferente intensidad de fluorescencia recubiertas con antígenos purificados, se han conseguido recubrir con los principales antígenos HNA (excepto con el HNA-3).





Muchas Gracias !!