

**SCREENING DE HPN DE ALTA SENSIBILIDAD MEDIANTE CITOMETRÍA DE FLUJO CON 6 FLUORESCENCIAS**

B. Álvarez, F.A. González, J. Villarrubia, M. Medrano, L. Conejo, I. Delgado, R. Guillén, E. Márquez, A.M. Ballesta  
*Laboratorio Clínico Central de Madrid. BRSalud. UTE*

**Fundamentos:** La hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) es una enfermedad rara caracterizada por el déficit parcial o total de proteínas ancladas a la membrana celular dependientes de glicofosfatidil inositol (GPI). En la actualidad algunos pacientes reciben tratamiento mediante el uso de un anticuerpo monoclonal (eculizumab). El correcto y rápido diagnóstico de esta enfermedad es clave para tratar la enfermedad por lo que el objetivo del presente estudio es determinar qué combinación de anticuerpos cuya unión es dependiente de GPI y/o FLAER (aerolisina bacteria que reconoce a GPI) proporciona de forma más sencilla y sensible la discriminación de las posibles clonas de HPN en los neutrófilos y en los monocitos.

**Material y métodos:** El estudio incluye 7 pacientes de HPN. Uno de ellos con HPN supclínica, y el resto en tratamiento con eculizumab. Para la detección de clona en monocitos y neutrófilos se estudiaron las proteínas dependientes de GPI con los AcMo: CD16 FITC, CD16 APC, CD24 PE, CD55 APC y CD14 PerCP-Cy5.5 además de FLAER FITC. Para una correcta selección de los monocitos y de los neutrófilos se utilizaron CD33 PE-Cy7 y CD45 APC-H7. Para la confirmación de existencia de clona se estudió además la expresión de CD55 APC y CD59 PE en la serie roja. La adquisición se realizó en un citómetro de flujo BD FACSCanto IITM (BD Biosciences).

**Resultados:** El uso de CD33 y CD45 permite una correcta discriminación de los neutrófilos y de los monocitos. En los neutrófilos FLAER y CD16 son los que mejor discriminan las 3 clonas, CD55 proporciona una leve menor resolución de la clona de tipo II que los anteriores la cual resulta más difícilmente detectable con CD24. En los monocitos FLAER y CD14 son ambos de gran utilidad en la discriminación de las clonas. El análisis combinado de FLAER con CD16 en los neutrófilos es el que mejor resuelve las 3 clonas mientras que FLAER o CD55 con CD14 resulta de gran utilidad para la discriminación de las clonas en el caso de los monocitos. Encontramos por tanto de gran utilidad la siguiente combinación: FLAER FITC/ CD24PE/ CD14PerCP-Cy5.5/ CD33PE-Cy7/ CD16APC/ CD45APC-H7.

**Conclusión:** El panel descrito permitió en los 7 casos estudiados de HPN una correcta detección de las clonas, incluso en el caso de la HPN subclínica. El uso de 6 fluorescencias permite en un único tubo la realización de un "screening" rápido de HPN y de alta sensibilidad en la serie blanca. No se descarta la utilidad de otras combinaciones de anticuerpos dependientes de GPI no incluidas en el presente estudio por lo que estudios adicionales contribuirán a una posible mejora de la sensibilidad de detección e identificación de las clonas de HPN.