



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

Facultad de  
**MEDICINA**

APORTE DE LAS PRUEBAS DE LABORATORIO, PARA EL  
DIAGNÓSTICO DE REFRACTARIEDAD PLAQUETARIA INMUNE

CONTRIBUTION OF LABORATORY TESTS TO THE DIAGNOSIS OF  
IMMUNE PLATELET REFRACTORINESS

TRABAJO ACADÉMICO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE SEGUNDA  
ESPECIALIDAD PROFESIONAL EN HEMOTERAPIA Y BANCO DE

SANGRE

AUTOR

ANDERSON WILY FERNANDEZ JIMENEZ

ASESOR

ERIK ALEXANDER SANCHEZ TREGGAR

LIMA – PERÚ

2025



**ASESOR DE TRABAJO ACADÉMICO**

**ASESOR**

Lic. ERIK ALEXANDER SANCHEZ TREGGAR

Departamento Académico de Tecnología Médica

ORCID: 0000-0001-6567-1639

**Fecha de aprobación:** 25 de noviembre de 2025.

**Calificación:** Aprobado.

## **DEDICATORIA**

A Dios por iluminarme y darme fuerza espiritual en los momentos difíciles de mi vida; para no desvanecer, y lograr mis objetivos.

El presente trabajo, está dedicado a mi esposa e hijas, como también a mis padres, por el apoyo incondicional para lograr mis metas propuestos.

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios y a todas las personas que me brindaron su apoyo incondicional, para poder lograr el desarrollo del presente trabajo.

## **FUENTES DE FINANCIAMIENTO**

Este trabajo fue autofinanciado.

## **DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS**

El autor declara no tener conflicto de interés.

## DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD



UNIVERSIDAD PERUANA  
CAYETANO HEREDIA

### DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

El egresado:

| N° | APELLIDOS Y NOMBRES             |
|----|---------------------------------|
| 1. | FERNANDEZ JIMENEZ ANDERSON WILY |

Pertenece al programa de la **SEGUNDA ESPECIALIDAD PROFESIONAL EN HEMOTERAPIA Y BANCO DE SANGRE**, autor del trabajo titulado: **APORTE DE LAS PRUEBAS DE LABORATORIO, PARA EL DIAGNÓSTICO DE REFRACTARIEDAD PLAQUETARIA INMUNE** el cual ha sido elaborado, sustentado y aprobado, según corresponda, para optar por el **TÍTULO DE SEGUNDA ESPECIALIDAD PROFESIONAL EN HEMOTERAPIA Y BANCO DE SANGRE** bajo la modalidad de **TRABAJO ACADÉMICO**.

En calidad de docente asesor de la Universidad Peruana Cayetano Heredia:

| N° | APELLIDOS Y NOMBRES DEL DOCENTE | FACULTAD | NIVEL DE ASESORÍA |
|----|---------------------------------|----------|-------------------|
| 1. | SANCHEZ TREGEAR ERIK ALEXANDER  | MEDICINA | ASESOR            |

Declaro que el contenido del presente documento es original y que las citas y referencias a otros autores cumplen con las normas académicas establecidas. En ese sentido, hacemos constar que:

- El documento presenta un porcentaje de similitud de **10%**, según el reporte emitido por el software **Turnitin®** (identificador de entrega: **trn:oid:::1:3455049879**; fecha de entrega: **09-01-2026**).
- Tras una revisión detallada del reporte y del contenido del trabajo en cuestión, no se han identificado indicios de plagio.
- Se certifica que el documento respeta los principios de integridad académica y cumple con los requisitos institucionales de originalidad.

Lugar y fecha: **Lima, 09 de Enero de 2026**

  
Firma del asesor  
N° DNI: 25827129  
ORCID: 0000-0001-6567-1639



## TABLA DE CONTENIDOS

|                                    | <b>Pág.</b> |
|------------------------------------|-------------|
| RESUMEN                            |             |
| ABSTRACT                           |             |
| I. INTRODUCCIÓN .....              | 1           |
| II. OBJETIVOS .....                | 4           |
| III. CUERPO.....                   | 5           |
| IV. CONCLUSIONES .....             | 19          |
| V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 20          |
| ANEXOS                             |             |

## RESUMEN

La refractariedad plaquetaria de origen inmunológico se produce cuando pacientes previamente expuestos a múltiples transfusiones generan aloanticuerpos dirigidos contra antígenos HLA de clase I presentes en las plaquetas del donante, contra antígenos plaquetarios humanos (HPA), o contra ambos tipos de antígenos, lo que interfiere con la eficacia transfusional. Las pruebas para detección de anti - HPA y anti - HLA son: La prueba de inmunofluorescencia plaquetaria (PIFT), el ensayo de inmovilización de antígenos plaquetarios con anticuerpos monoclonales (MAIPA), el ensayo en fase sólida y una variedad del ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA). Para la detección de anti-HLA, se emplea la técnica LUMINEX®, mientras que para la identificación de anti-HPA se utiliza el método MAIMA (Inmovilización de Anticuerpos Monoclonales sobre Antígenos de Megacariocitos).

**Objetivo:** Describir el aporte de las pruebas de laboratorio para el diagnóstico de la refractariedad plaquetaria inmune. **Materiales y métodos:** El presente trabajo corresponde a un estudio analítico de tipo descriptivo. Se realizó una revisión exhaustiva de la literatura científica disponible en bases de datos especializadas como GCIAMT, InfoMED, Pub Med, Revista Médica, Elsevier, SciELO. La estrategia de búsqueda incluyó términos relacionados con el tema, tales como: *refractariedad plaquetaria inmune, distribución de anticuerpos plaquetarios en pacientes con refractariedad*, así como sus equivalentes en idioma inglés para asegurar una cobertura amplia y completa de la información relevante. **Conclusión:** MAIPA continúa siendo el estándar de referencia para la detección de anticuerpos anti-HPA y anticuerpos anti-HLA plaquetarios debido a su elevada sensibilidad y especificidad.

**Palabras claves:** Aloinmunización, antígeno plaquetario humano, glicoproteínas, refractariedad.

## ABSTRACT

Immunologically mediated platelet refractoriness occurs when patients previously exposed to multiple transfusions generate alloantibodies directed against HLA class I antigens present on donor platelets, against human platelet antigens (HPA), or against both types of antigens, thereby interfering with transfusion efficacy. Tests for detecting anti-HPA and anti-HLA include: Platelet immunofluorescence test (PIFT), monoclonal antibody platelet antigen immobilization assay (MAIPA), solid-phase assay, and a variety of enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA). For the detection of anti-HLA, the LUMINEX® technique is used, while for the identification of anti-HPA, the MAIMA method (Monoclonal Antibody Immobilization on Megakaryocyte Antigens).

**Objective:** To describe the contribution of laboratory tests for the diagnosis of immune platelet refractoriness. **Materials and methods:** This work corresponds to a descriptive analytical study. A comprehensive review of the scientific literature available in specialized databases such as GCIAMT, InfoMED, PubMed, Revista Médica, Elsevier, SciELO was performed. The search strategy included terms related to the topic, such as: immune platelet refractoriness, distribution of platelet antibodies in patients with refractoriness, as well as their English-language equivalents to ensure broad and complete coverage of relevant information. **Conclusion:** MAIPA continues to be the reference standard for the detection of anti-HPA antibodies and anti-HLA platelet antibodies due to its high sensitivity and specificity.

**Keywords:** alloimmunization, human platelet antigen, glycoproteins, refractoriness.

## I. INTRODUCCIÓN

La refractariedad plaquetaria se refiere a la falta de respuesta sostenida en el recuento de plaquetas luego de la administración de transfusiones de plaquetas, a pesar de haber recibido al menos dos unidades compatibles y adecuadamente dosificadas (1).

A nivel global, la incidencia de refractariedad plaquetaria muestra una variabilidad significativa, condicionada por las características de la población y el contexto clínico en el que se produce la transfusión. Un análisis bibliométrico internacional estimó que aproximadamente el 19,3% de los pacientes politransfundidos desarrollan algún grado de refractariedad transfusional a plaquetas. En poblaciones con patologías hematológicas o neoplásicas, la prevalencia puede oscilar entre el 17% y el 45%, incluso cuando se emplean concentrados plaquetarios sometidos a procesos de leucorreducción, lo que evidencia la persistencia del riesgo inmunológico pese a medidas profilácticas avanzadas (2).

No obstante, se estima que entre el 30% y 40% de los casos de refractariedad plaquetaria tienen una etiología inmunológica, atribuida a la presencia de aloanticuerpos dirigidos contra antígenos plaquetarios. Dentro de este grupo, los anticuerpos anti-HLA clase I son responsables del 80% al 90% de los casos; los anticuerpos anti-HPA, del 5% al 20%; mientras que una proporción menor involucra respuesta inmune mixta contra HLA y HPA (~5%). Asimismo, pueden estar implicados anticuerpos ABO no compatibles y, en menor medida, autoanticuerpos contra plaquetas (3).

En América Latina, se ha estimado que entre el 20% y el 50% de los pacientes politransfundidos con concentrados plaquetarios desarrollan aloanticuerpos

dirigidos contra antígenos HLA clase I y/o antígenos plaquetarios específicos (HPA), lo cual representa una causa importante de refractariedad transfusional de origen inmunológico. Sin embargo, en la mayoría de los países de la región, la inmunohematología plaquetaria no ha sido integrada de manera sistemática en los servicios de medicina transfusional (4).

Las fórmulas más empleadas, para controlar el incremento plaquetario después de la transfusión en el receptor, son: El incremento plaquetario corregido (ICC) y el porcentaje de respuesta plaquetaria (PPR), para ello, son ajustadas al tamaño del paciente y a la dosis administrada (5).

Actualmente existen pruebas de laboratorio para la detección de refractariedad por alo sensibilización inmune; a continuación, se detalla: Formula para detectar refractariedad plaquetaria, prueba cruzada de plaquetas, método de linfocitotoxicidad (LCT), luminex, ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA), inmovilización específica de antígenos plaquetarios por anticuerpos monoclonales (MAIPA), prueba e inmunofluorescencia plaquetaria (PIFT), resonancia plasmonica de superficie (SPR), prueba de aglutinación de glóbulos rojos en fase sólida (SPRCA), test de inmunofluorescencia por citometría de flujo IgG/IgM (5,6).

El propósito de este trabajo es analizar y detallar el valor diagnóstico que aportan las pruebas de laboratorio inmunohematológicas en la identificación de la refractariedad plaquetaria de origen inmune, específicamente a través de la evaluación de parámetros como el Incremento Corregido del Recuento Plaquetario (CCI) y la detección de aloanticuerpos anti-HLA clase I y anti-HPA, mediante técnicas serológicas avanzadas. Este enfoque permite establecer un diagnóstico

diferencial entre causas inmunológicas y no inmunológicas, optimizando así las decisiones clínicas transfusionales en pacientes politransfundidos.

## **II. OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Describir el aporte de las pruebas de laboratorio para el diagnóstico de la refractariedad plaquetaria inmune.

### **III. CUERPO**

#### **Refractariedad Plaquetaria**

Refractariedad plaquetaria se define como la ausencia de una respuesta adecuada en el recuento plaquetario posterior a una transfusión de plaquetas, evidenciada por un incremento subóptimo o nulo en el conteo de plaquetas dentro de las 24 horas posteriores a la transfusión. Esta condición puede deberse a mecanismos inmunológicos (como la presencia de aloanticuerpos contra antígenos HLA o HPA) o no inmunológicos (6).

#### **Causas**

Las causas de refractariedad plaquetaria; son de dos tipos: las inmunes y no inmunes (7).

#### **Refractariedad no inmune**

Los casos la refractariedad plaquetaria no inmune se presentan con mayor frecuencia del 60% a 80% (5).

Existen ciertos factores no inmunes que influyen en el incremento del recuento de plaquetas post transfusión, que se tiene que tomar atención en pacientes a transfundir, se detalla a continuación: Mayor área de superficie corporal, género masculino, presencia de esplenomegalia, e hipertensión portal (7). Siempre considerar en primer lugar la calidad del hemocomponente como las plaquetas (4).

#### **Refractariedad Inmune**

La refractariedad plaquetaria inmune es ocasionada por la aloinmunización al antígeno leucocitario humano (HLA) y/o al antígeno plaquetario humano (HPA); como resultado de una exposición previa a la transfusión. Otra de las causas de refractariedad inmune es la incompatibilidad ABO (receptor y/o donante). La

disminución del número de plaquetas, estaría relacionada con autoanticuerpos contra glicoproteínas presentes en las plaquetas y los anticuerpos plaquetarios relacionados con fármacos son otros factores inmunológicos (8 , 9).

La incompatibilidad de antígenos HLA, es la causa inmunitaria comúnmente descrita (8). Las transfusiones plaquetarias repetidas, especialmente en pacientes politransfundidos, pueden inducir una respuesta inmunológica alogénica debido a la presencia de polimorfismos genéticos en las moléculas de superficie plaquetaria, particularmente en los antígenos HLA clase I y los antígenos plaquetarios humanos (HPA). Esta exposición antigénica puede llevar al desarrollo de aloanticuerpos por parte del receptor, los cuales se unen a dichos antígenos en la superficie de las plaquetas transfundidas. Como consecuencia, las plaquetas administradas son rápidamente eliminadas de la circulación, lo que compromete la eficacia de la transfusión y contribuye al desarrollo de refractariedad plaquetaria de origen inmunológico (5,10).

#### **Aloinmunización con antígeno leucocitario humano (HLA)**

En la mayoría de los casos, la aloinmunización contra antígenos del sistema HLA constituye la causa principal de refractariedad plaquetaria, con una incidencia estimada en aproximadamente el 67% de los pacientes afectados. Las plaquetas expresan en su membrana antígenos HLA de clase I, particularmente de los loci HLA-A y HLA-B, los cuales presentan un alto grado de polimorfismo genético. Esta variabilidad incrementa la probabilidad de incompatibilidad entre donante y receptor, favoreciendo la producción de aloanticuerpos anti-HLA y, en consecuencia, la rápida eliminación de las plaquetas transfundidas (9).

La presencia de moléculas HLA altamente polimórficas desempeña un papel fundamental en el desarrollo de aloinmunización, constituyendo una de las principales causas de refractariedad a la transfusión de plaquetas. Tras la administración de transfusiones plaquetarias, el receptor puede exponerse a antígenos HLA clase I expresados en la membrana de las plaquetas del donante, así como a moléculas HLA presentes en leucocitos residuales que contaminan el concentrado plaquetario, especialmente si no ha sido adecuadamente leucorreducido. Esta exposición puede inducir la formación de aloanticuerpos anti-HLA, los cuales reconocen y neutralizan rápidamente las plaquetas transfundidas en eventos posteriores, impidiendo su eficacia hemostática y reduciendo su vida media en circulación (10).

Se ha reportado que la prevalencia de anticuerpos HLA en pacientes hematooncológicos que han recibido múltiples transfusiones puede llegar a ser tan alta como el 25% hasta el 93%. En el caso de las mujeres con antecedentes de un embarazo, esta prevalencia se sitúa alrededor del 11%, incrementándose en un 23% en aquellas que han tenido más de cuatro embarazos (11).

El principal mecanismo que da lugar a la aloinmunización consiste en la presentación de péptidos antigénicos del donante a los receptores de células T, específicamente a las células T CD4+ del receptor. Este proceso puede ocurrir a través de dos rutas diferentes: el alorreconocimiento directo y el indirecto. En el alorreconocimiento directo, las células T CD4+ del receptor identifican directamente los antígenos HLA de clase II presentes en las células presentadoras de antígenos (CPA) del donante, mayoritariamente a partir de antígenos HLA ajenos. Esta interacción entre las CPA del donante y las células T del receptor puede

inducir a que las células B del receptor generen anticuerpos contra estos antígenos. En contraste, el alorreconocimiento indirecto implica que las CPA del receptor deben captar y procesar fragmentos de las células del donante antes de activar las células T que reconocerán estos aloantígenos, lo que eventualmente lleva a la producción de aloanticuerpos (9).

### **Aloinmunización HPA (aloantígenos plaquetarios específicos)**

Las glicoproteínas plaquetarias específicas, pueden desarrollar refractariedad plaquetaria. La HPA es un mecanismo menos habitual de aloinmunización plaquetaria y debe ser contemplado únicamente en aquellos casos en los que no se identifiquen anticuerpos HLA. El sistema HPA está compuesto por 35 antígenos conocidos, los cuales presentan una variabilidad antigénica menor en comparación con el sistema HLA. Esto explica por qué un número significativamente inferior de anticuerpos contra HPA se involucra en los casos de plaquetas refractarias de origen inmunológico. Sin embargo, en caso de que se presenten, los anticuerpos HPA pueden provocar una rápida eliminación de las plaquetas del donante mediante un mecanismo que depende de FcγR o a través de la activación de la vía del complemento (12).

El 75-85 % de los casos diagnosticados clínicamente son anticuerpos con especificidad HPA-1a, mientras que el 14 % son anticuerpos con especificidad HPA-1b. Siendo el 4,3 % de los casos afectados por anticuerpos con especificidad HPA-5b. Son poco comunes (menos de 1 %) a la especificidad HPA-3a. En Japón hay menos casos reportados de especificidad HPA-4b, y la mayor parte de su población es HPA-1a; registrándose casos de NAIT (trombocitopenia neonatal aloinmune) por la presencia de este anticuerpo (13).

En la población caucásica, el anticuerpo que se relaciona comúnmente, es el anti-HPA 1a, presente en el 80% de los casos, ya que dos tercios de las mujeres reflejan los antígenos plaquetarios HPA-1b. El segundo anticuerpo más común en la raza caucásica es el anti-HPA-5b, que normalmente producen una trombocitopenia que es menos grave (14).

Los aloanticuerpos maternos dirigidos contra los antígenos plaquetas humanos (HPA-1a o HPA-5b) del feto, causan trombocitopenia aloimmune neonatal fetal (FNAIT), que puede ocasionar sangrado severo (15).

### **Aloimmunización ABO**

Se cree que la expresión de antígenos ABH en las plaquetas es demasiado débil para que las isoaglutininas anti-A y anti-B puedan desarrollar un efecto negativo en la supervivencia de las plaquetas ABO incompatibles; no obstante, se han señalado aumentos positivos tras la transfusión, al llevarse a cabo con plaquetas ABO compatibles (8).

Esto significa que los anticuerpos anti-A o anti-B del receptor natural, pueden atacar a las plaquetas que contienen antígenos A o B, a lo que conlleva a la eliminación de estas plaquetas de la sangre (16).

### **Anticuerpos inducidos por fármacos**

Se han reportado diferentes mecanismos para el desarrollo de anticuerpos inducidos por fármacos, la mayor cantidad de anticuerpos plaquetarios dependientes de fármacos clínicamente importantes son el resultado de interacciones de fármacos con las glicoproteínas localizadas en la membrana plaquetaria (5).

Se desconoce el mecanismo de la trombocitopenia inducida por fármacos. Pero se han propuesto al menos 6 mecanismos posibles: Anticuerpos inducidos por

hapteno, anticuerpos dependientes de fármacos, inhibidores del complejo GP IIb-IIIa, autoanticuerpos inducidos por fármacos, trombocitopenia inducida por complejos inmunes y heparina. Siendo el objetivo de los anticuerpos dependientes de fármacos las glicoproteínas localizadas en la membrana de las plaquetas, especialmente la glicoproteína Ib/IX y GPIIb/IIIa (13).

### **Pruebas de laboratorio para el estudio de refractariedad plaquetaria tipo inmune**

#### **Fórmula para determinar Refractariedad plaquetaria**

Las fórmulas más utilizadas para controlar el aumento del recuento de plaquetas después de la transfusión de las mismas son: el recuento de plaquetas corregido (CCI) y el porcentaje de respuesta plaquetaria (PPR) (5). Generalmente estudios, conocen a la refractariedad plaquetaria con un CCI < 5000 posterior a 2 transfusiones consecutivas. Pero también la pueden presentarse valores con un CCI < 7500 y PPR < 30% (5).

Fórmulas para el diagnóstico de refractariedad plaquetaria:

#### **Incremento del Recuento Corregido (CCI)**

$$\text{CCI} = \frac{(\text{Recuento de plaquetas post-transfusión} - \text{Recuento de plaquetas pre-transfusión}) / (\text{L}) \times \text{BSA (m}^2\text{)}}{\text{Plaquetas transfundidas (10}^{11}\text{)*}}$$

#### **Recuperación de Plaquetas en Porcentaje (PPR)**

$$\text{PPR} = \frac{(\text{Recuento de plaquetas post-transfusión} - \text{Recuento de plaquetas pre-transfusión}) / (\text{L}) \times \text{TBV} \times 100\%}{\text{Plaquetas transfundidas (10}^{11}\text{)*}}$$

**Nota:**

\*Si el recuento exacto de plaquetas no está disponible, usar  $3 \times 10^{11}$

BSA: Área de superficie corporal; TBV: Volumen sanguíneo total

Se deben evaluar tanto el CCI-1h (10 min a 1 h) como el CCI-24h (16 o 24 h) para ayudar a diferenciar la refractariedad plaquetaria (PTR) inmune del no inmune. En la PTR no inmune, los niveles de CCI-1h suelen ser superiores a 7500/L y los niveles de CCI-24h son inferiores a 4500/L, lo que indica una regeneración plaquetaria normal pero una supervivencia plaquetaria reducida. Se observaron casos típicos de PTR inmune, con valores de CCI-1h inferiores a 7500/l y valores de CCI-24h inferiores a 4500/l, lo que sugiere que la recuperación plaquetaria es reducida, que se manifiesta casi exclusivamente después de la transfusión (11).

**Prueba Cruzada de plaquetas**

Es la metodología más rápida y fácil de obtener una unidad de plaquetas compatible. La técnica de adherencia de hematíes en fase sólida, mezcla el panel de plaquetas del donante con el suero del receptor, y los anticuerpos contra HLA o HPA que se adhieren a las plaquetas, llegándose a observar con hematíes recubiertos con anti inmunoglobulina G. Los pacientes altamente aloinmunizados, suele ser un problema (5).

**Técnicas de Laboratorio para la identificación de aloanticuerpos anti-HLA y anti-HPA****Método de Linfocitotoxicidad (LCT)**

La prueba de citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), también llamada prueba de citotoxicidad linfocitaria (LCT), es el método tradicional y ampliamente

aceptado para detectar anticuerpos HLA, se incubaba el suero del paciente con los linfocitos de posibles donantes. La unión de anticuerpos, desarrolla lisis mediada por complemento, marcando una incompatibilidad (5). En este método, se utilizan linfocitos del donante para detectar anticuerpos dependientes del complemento presentes en el plasma del paciente. Este método es uno de los más rentables en comparación con las pruebas de detección de HLA actualmente disponibles en el mercado. Sin embargo, este método depende en gran medida de la viabilidad de las células del donante, requiere un largo período de incubación y no detecta anticuerpos no citotóxicos, lo que da como resultado una baja sensibilidad (18).

#### **Ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA)**

Tiene como fundamento, presentar el antígenos HLA purificados, que sirven como objetivo para la unión del anticuerpo del paciente. El resultado de la unión del anticuerpo de la muestra del paciente, con los diferentes antígenos localizados en la placa de ELISA, se detecta tras una incubación adicional con un anticuerpo conjugado con fosfatasa alcalina; el cual es capaz de reconocer exclusivamente la IgG humana (1).

#### **LUMINEX®**

La tecnología Luminex ofrece una alternativa eficaz para la detección de anticuerpos anti-HPA y anti-HLA en el contexto diagnóstico. El ensayo Luminex demostró una mayor sensibilidad y rapidez en la detección de anticuerpos anti-HPA en comparación con el método MAIPA, con resultados disponibles en aproximadamente tres horas. Su capacidad para identificar simultáneamente múltiples anticuerpos, sin evidencia de reactividad cruzada entre HLA y diferentes tipos de anticuerpos plaquetarios, lo hace más eficiente y menos demandante en

volumen de muestra. Sin embargo, su eficacia puede verse limitada por la falta de cobertura antigénica, como se evidenció en un caso donde no fue posible confirmar un anticuerpo anti-HPA-1b debido a la ausencia de dicho antígeno en el panel (17).

#### **Prueba de laboratorio de inmunofluorescencia plaquetaria (PIFT)**

Esta prueba tiende a detectar la adhesión de IgG e IgM a las plaquetas, como también los anticuerpos contra antígenos HLA de clase I, HPA y autoanticuerpos. El PIFT presenta mayor sensibilidad y una especificidad reducida; e identificará todos los anticuerpos que se encuentren en el suero al mismo tiempo, abarcando anticuerpos HPA y clase I HLA (19).

#### **Detección de anticuerpos mediante ensayo multiplex basado en microesferas utilizando luminex**

Para el análisis en la identificación de anticuerpos HPA, se realiza utilizando esferas Luminex; de varios colores, que contienen distintas estructuras de GP (glicoproteínas) de tipo HPA, comparables con un panel de detección de anticuerpos plaquetarios (2).

Para localizar y reconocer los anticuerpos anti-HPA (HPA-1, HPA-2, HPA-3, HPA-4, HPA-5, GPIV y HLA clase I); también se puede desarrollar utilizando el kit de ensayo Pak-Lx (Immucor, Norcross, GA, Estados Unidos). Posterior a la reacción, \*la intensidad media Fluorescente (MFI) de cada microesfera, se calcula con el instrumento Luminex 200. Para la interpretación se utiliza, el programa de software de anticuerpos MATCH IT (Immucor, Norcross, GA, Estados Unidos) (3).

#### **Inmovilización específica de antígenos plaquetarios con anticuerpos monoclonales (MAIPA)**

Es un método que emplea los antígenos ubicados en la superficie de las plaquetas y anticuerpos monoclonales (MoAbs) para identificar anticuerpos plaquetarios en humanos. La técnica demanda grandes cantidades de suero y toma alrededor de 8 a 12 horas. Se considera que la MAIPA es el método más preciso y sensible para identificar anticuerpos dirigidos contra los antígenos que se encuentran en las glicoproteínas (18).

### **Citometría de Flujo**

Esta metodología sirve, para la detección de diversas condiciones, como deficiencias hereditarias de glicoproteínas, defectos en la liberación de gránulos, trombocitopenias inducidas por fármacos, la presencia de anticuerpos antiplaquetarios y la evaluación de la inhibición farmacodinámica causada por agentes antiplaquetarios (19).

También ayuda a identificar, la presencia de anticuerpos anti-HLA utilizando anticuerpos dirigidos contra inmunoglobulinas humanas conjugados a fluorocromos, sin requerir la fijación del complemento. Los anticuerpos anti-HLA se unen a las moléculas HLA específicas y se detectan a través de una inmunoglobulina anti-IgG, que está marcada con un fluorocromo (20).

### **Prueba de adherencia de células rojas de fase sólida (SPRCA)**

Es una prueba de análisis de adherencia de hematíes en fase sólida, ampliamente utilizado para detectar anticuerpos plaquetarios (21). La sensibilidad de la adherencia de células rojas en fase sólida (SPRCA) es escasa y se necesita llevar a cabo una segunda prueba con plaquetas intactas previamente tratadas con cloroquina para especificar la reacción provocada por anti-HLA (22).

Las plaquetas con un fenotipo de antígeno específico se adhieren a la superficie de las placas de poliestireno. Posteriormente, se añade el plasma del paciente y se incuba la mezcla, permitiendo que los anticuerpos presentes en el plasma se unan a las plaquetas. Se lavan los pocillos con el fin de eliminar los anticuerpos no unidos. Posteriormente, se añaden glóbulos rojos indicadores recubiertos con anti-IgG a los pocillos para verificar si hay una unión a los anticuerpos presentes (23).

En el contexto del estudio de aloanticuerpos plaquetarios, se ha observado que la sensibilidad del método Solid Phase Red Cell Adherence (SPRCA) puede ser limitada para la detección de anticuerpos dirigidos contra antígenos plaquetarios humanos (HPA). Esta baja sensibilidad podría atribuirse, en parte, al escaso número de muestras evaluadas en algunos estudios, lo que condiciona la capacidad de generalización de los resultados. Por tanto, se concluye que el uso del SPRCA no es recomendable como herramienta diagnóstica en la investigación de trombocitopenia aloinmune neonatal. En su lugar, se sugiere el empleo de técnicas más sensibles, como la citometría de flujo (24).

### **Resonancia Plasmonica de Superficie (SPR)**

Es un método que ayuda a la detección de anticuerpos HPA. Bakchoul y colaboradores ensayaron con éxito fracciones de IgG obtenidas de sueros maternos en celdas de flujo con GPIIb/IIIa tipificado HPA-1 purificado de donantes de plaquetas. Peterson y colaboradores obtuvieron en su investigación mayor sensibilidad usando la metodología SPR en 61 casos de sospecha de trombocitopenia aloinmune fetal y neonatal (FNAIT), con madres negativas a HPA-1a (18).

### **Elisa de captura de antígeno (ACE)**

En este ensayo las glicoproteínas de las plaquetas aisladas de donantes tipificadas por HPA son retenidas en un soporte sólido, previamente recubierto con anticuerpos monoclonales específicos de GP (moab) antihumanos de ratón y se incuban con el suero del receptor (25).

### **Elisa de captura de antígeno modificado (MACE)**

El ensayo ELISA de fase sólida tipo captura de antígeno modificado (MACE) es una técnica cualitativa inmunoenzimática diseñada para la detección de inmunoglobulinas G (IgG) dirigidas contra antígenos plaquetarios específicos, principalmente glicoproteínas de membrana (26).

La comparación entre los métodos MACE (Captura de Antígeno Modificado) y MAIPA (Inmovilización de Antígeno Plaquetario mediante Anticuerpo Monoclonal) para la detección de anticuerpos IgG específicos contra la glicoproteína IIb/IIIa en un conjunto de 81 muestras procedentes de pacientes con trombocitopenia. Los resultados evidenciaron que ambos ensayos presentaron una sensibilidad del 39 % y una especificidad del 91 %, lo que indica una equivalencia diagnóstica entre los métodos. A pesar de esta similitud en sensibilidad y especificidad, se reconocen diferencias metodológicas relevantes entre ambas técnicas (26).

### **Inmovilización monoclonal de anticuerpo monoclonal de antígenos megactilianos (MAIMA)**

MAIMA es una técnica serológica emergente que emplea megacariocitos diferenciados *in vitro* a partir de células progenitoras hematopoyéticas CD34+ extraídas de buffy coats, como alternativa a las plaquetas genotipificadas convencionales para la detección de aloanticuerpos anti-HPA.(27)

Este método ha demostrado alta sensibilidad y excelente correlación con MAIPA ( $r = 0,96$ ) en la detección de anticuerpos anti-HPA-1a, lo que lo posiciona como una posible herramienta diagnóstica en contextos con acceso limitado a plaquetas tipificadas. Sin embargo, su desempeño frente a otros alelos, como HPA-3a y HPA-3b, ha sido inferior en términos de densidad óptica, y ha mostrado completa falta de reactividad ante anti-HPA-5b, lo que evidencia limitaciones importantes en su aplicabilidad universal (27).

### **Análisis Comparativo de Métodos para la Identificación de Anticuerpos Anti-HPA y Anti-HLA**

Diversos estudios efectuaron un análisis comparativo entre la técnica MAIPA considerada el estándar de referencia para la identificación de anticuerpos dirigidos contra antígenos plaquetarios y diversas metodologías inmunodiagnósticas automatizadas, entre ellas Pak-Lx, PIFT y DLX (25).

El sistema Pak-Lx (Immucor®), en comparación con MAIPA, demostró una sensibilidad del 91 % y una especificidad del 96 %, con valores predictivos positivo y negativo de 95 % y 93 %, respectivamente, y una concordancia global del 94 %. No obstante, en ciertos casos clínicos incluyendo pacientes con refractariedad plaquetaria inmune (IPR), MAIPA no logró evidenciar panreactividad frente al complejo GPIa/IIa ni identificar anticuerpos dirigidos contra el antígeno HPA-5b. Adicionalmente, en cuatro muestras, Pak-Lx arrojó resultados negativos a pesar de que MAIPA detectó anticuerpos anti-HLA (25).

La técnica de inmunofluorescencia plaquetaria (PIFT) , comparada con MAIPA, alcanzó una sensibilidad del 95 % y una especificidad del 82 %, con valores predictivos positivo y negativo de 81 % y 96 %, respectivamente, y una

concordancia general del 88 %. Sin embargo, se observaron limitaciones de MAIPA en la detección de anticuerpos dirigidos contra múltiples antígenos plaquetarios (GPIIb/IIIa, GPIa/IIa, GPIbIX y beta-2-microglobulina), así como anti-HPA-5b y anti-HLA en varios casos. A su vez, PIFT mostró resultados falsamente negativos en dos muestras en las que MAIPA detectó anticuerpos anti-HLA, incluida una con panreactividad (25).

En la comparación entre MAIPA y el ensayo DLX (técnica multiplexada para detección de anticuerpos anti-HLA), se reportó una sensibilidad y especificidad del 77 %, con un valor predictivo positivo de 68 % y negativo de 84 %, lo que refleja una concordancia total del 77 %. En nueve casos de IPR, MAIPA no identificó anticuerpos anti-HLA presentes, mientras que, en otros nueve casos, la detección por MAIPA no fue confirmada por DLX (25).

#### **IV. CONCLUSIONES**

- La detección de anticuerpos anti-HPA y anti-HLA es clave en el manejo de patologías como la trombocitopenia neonatal aloinmune (FNAIT), púrpura trombocitopénica postransfusional (PTP) y refractariedad transfusional. Si bien el método MAIPA se considera el estándar por su alta sensibilidad y especificidad, su aplicación es limitada por requerimientos técnicos complejos.
- Las pruebas de inmunofluorescencia (PIFT) y los ensayos en microesferas (como Luminex) ofrecen alternativas sensibles para el tamizaje, aunque requieren confirmación debido a limitaciones en especificidad e interpretación.
- Los inmunoensayos enzimáticos permiten automatización en el cribado, pero su menor precisión los hace poco adecuados para diagnóstico confirmatorio.
- Las tecnologías emergentes basadas en megacariocitos in vitro representan una solución prometedora para la estandarización futura, especialmente en contextos con acceso restringido a plaquetas tipificadas.

## V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mathew S. Platelet Refractoriness: Examining Associated Morbidity and Mortality. *Clin J Oncol Nurs*. 1 de febrero de 2021;25(1):89-92.
2. Liu Y, Zhang Y, Chen D, Fu Y. Current Status of and Global Trends in Platelet Transfusion Refractoriness From 2004 to 2021: A Bibliometric Analysis. *Front Med [Internet]*. 6 de mayo de 2022 [citado 26 de septiembre de 2024];9. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/journals/medicine/articles/10.3389/fmed.2022.873500/full>
3. Cabral LJB, Lopes DP, Filho E dos SM, Valois RC, Oliveira PCAJ, Mendonça-Mattos PJ de S. Anti-HLA antibody formation increases the chances of platelet refractoriness in platelet-transfused patients: a systematic review with meta-analysis. *Hematol Transfus Cell Ther [Internet]*. 1 de abril de 2025 [citado 26 de abril de 2025];47(2). Disponible en: [http://www.htct.com.br/en-anti-hla-antibody-formation-increases-chances-articulo-S2531137925000896?utm\\_source=chatgpt.com](http://www.htct.com.br/en-anti-hla-antibody-formation-increases-chances-articulo-S2531137925000896?utm_source=chatgpt.com)
4. Presentación de PowerPoint [Internet]. [citado 12 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://gciamt.org/wp-content/uploads/2021/09/Boletin-Agosto-2021-ajustado.pdf>
5. Cohn CS. Platelet transfusion refractoriness: how do I diagnose and manage? *Hematol Am Soc Hematol Educ Program*. 4 de diciembre de 2020;2020(1):527-32.
6. Calderón Gasca A, Graciano Vera N. Evaluación y manejo de la refractariedad plaquetaria: una propuesta. *Rev Mex Med Transfusional [Internet]*. 2020

[citado 02 de febrero de 2025];13(1):7-14. Disponible en:  
<https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=95494>

7. Youk HJ, Hwang SH, Oh HB, Ko DH. Evaluation and management of platelet transfusion refractoriness. *Blood Res.* 30 de abril de 2022;57(S1):6-10.
8. Belizaire R, Makar RS. Non-Alloimmune Mechanisms of Thrombocytopenia and Refractoriness to Platelet Transfusion. *Transfus Med Rev.* octubre de 2020;34(4):242-9.
9. Wang J, You X, He Y, Hong X, He J, Tao S, et al. Simultaneous genotyping for human platelet antigen systems and HLA-A and HLA-B loci by targeted next-generation sequencing. *Front Immunol* [Internet]. 29 de septiembre de 2022 [citado 20 de marzo de 2025];13:945994. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9575554/>
10. Saris A, Pavenski K. Human Leukocyte Antigen Alloimmunization and Alloimmune Platelet Refractoriness. *Transfus Med Rev.* octubre de 2020;34(4):250-7.
11. Lubis AM, Baskoro MO, Yasmin A. Platelet Transfusion Refractoriness. *Plasmatology* [Internet]. 1 de enero de 2024 [citado 2 de febrero de 2025];18. Disponible en: <https://www.scopus.com/pages/publications/85206016807>
12. Van Osch TLJ, Oosterhoff JJ, Bentlage AEH, Nouta J, Koeleman CAM, Geerdes DM, et al. Fc galactosylation of anti-platelet human IgG1 alloantibodies enhances complement activation on platelets. *Haematologica.* 1 de octubre de 2022;107(10):2432-44.

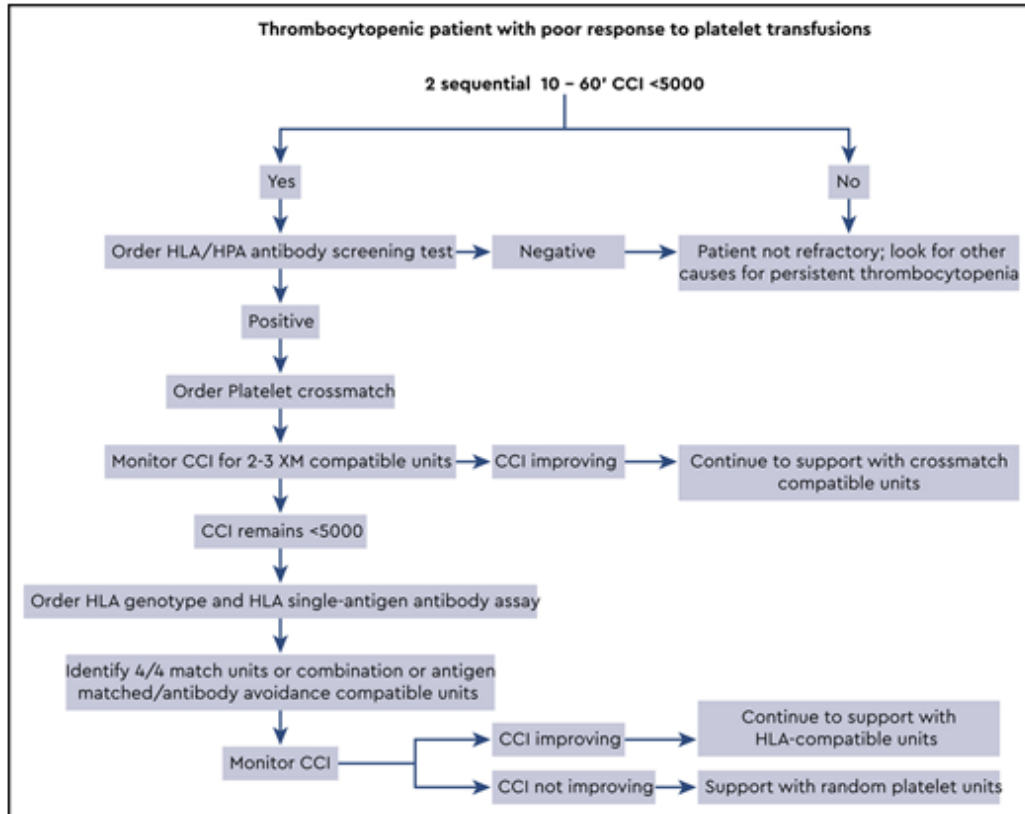
13. Soler Noda G, Romero Díaz Y, Forrellat Barrios M, Bencomo Hernández A. Conocimientos actuales sobre la patogénesis, presentación clínica, diagnóstico y manejo de la trombocitopenia neonatal aloinmune. *Rev Cuba Pediatría* [Internet]. 2019 [citado 14 de marzo de 2025];91(3):9. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=10149774>
14. Martínez NM, Fernández EM, Arriazu MF, Velasco AM, Serna AR, Iurin AU, et al. Trombocitopenia inmune neonatal, una patología poco conocida y un reto diagnóstico. *Bol Soc Vasco-Navar Pediatría Euskal Herriko Pediatr Elkartearen Aldizkaria* [Internet]. 2023 [citado 2 de febrero de 2025];124:85-9. Disponible en: <https://research.science.eus/documentos/659eebf95299d3d0572cd43?lang=gl>
15. De Vos TW, Porcelijn L, Hofstede-van Egmond S, Pajkrt E, Oepkes D, Lopriore E, et al. Clinical characteristics of human platelet antigen (HPA)-1a and HPA-5b alloimmunised pregnancies and the association between platelet HPA-5b antibodies and symptomatic fetal neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Br J Haematol*. noviembre de 2021;195(4):595-603.
16. Denomme GA, Anani WQ. ABO titers: harmonization and identifying clinically relevant ABO antibodies. *Transfusion (Paris)*. marzo de 2020;60(3):441-3.
17. Tao S, Chen S, Hong X, He J, Zhu F. Novel method for simultaneously detecting HPA and HLA antibodies using Luminex microbeads. *J Transl Med* [Internet]. 5 de agosto de 2019 [citado 3 de marzo de 2025];17(1):249. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12967-019-2002-4>

18. Porcelijn L, Huiskes E, de Haas M. Progress and development of platelet antibody detection. *Transfus Apher Sci* [Internet]. 1 de febrero de 2020 [citado 2 de febrero de 2025];59(1):102705. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1473050219302782>
19. Shen CL, Wu YF. Flow cytometry for evaluating platelet immunophenotyping and function in patients with thrombocytopenia. *Tzu-Chi Med J* [Internet]. 26 de julio de 2022 [citado 3 de marzo de 2025];34(4):381-7. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9791859/>
20. Takahashi D, Nakajima F, Tsuno NH. Human leukocyte antigen antibody detection technologies in platelet transfusion refractoriness, with special emphasis on functional test. *Ann Blood* [Internet]. 19 de octubre de 2018 [citado 19 de marzo de 2025];3(0). Disponible en: <https://aob.amegroups.org/article/view/4674>
21. Chiueh TS, Wang HY, Wu MH, Hsueh YS, Chen HC. Evaluation of Platelet Alloimmunization by Filtration Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Diagnostics* [Internet]. 11 de mayo de 2023 [citado 19 de marzo de 2025];13(10):1704. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10217588/>
22. Vongchan P, Nawarawong W, Linhardt RJ. Modification of Solid Phase Red Cell Adherence Assay for the Detection of Platelet Antibodies in Patients With Thrombocytopenia. *Am J Clin Pathol* [Internet]. septiembre de 2008 [citado 7 de marzo de 2025];130(3):455-66. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2628744/>

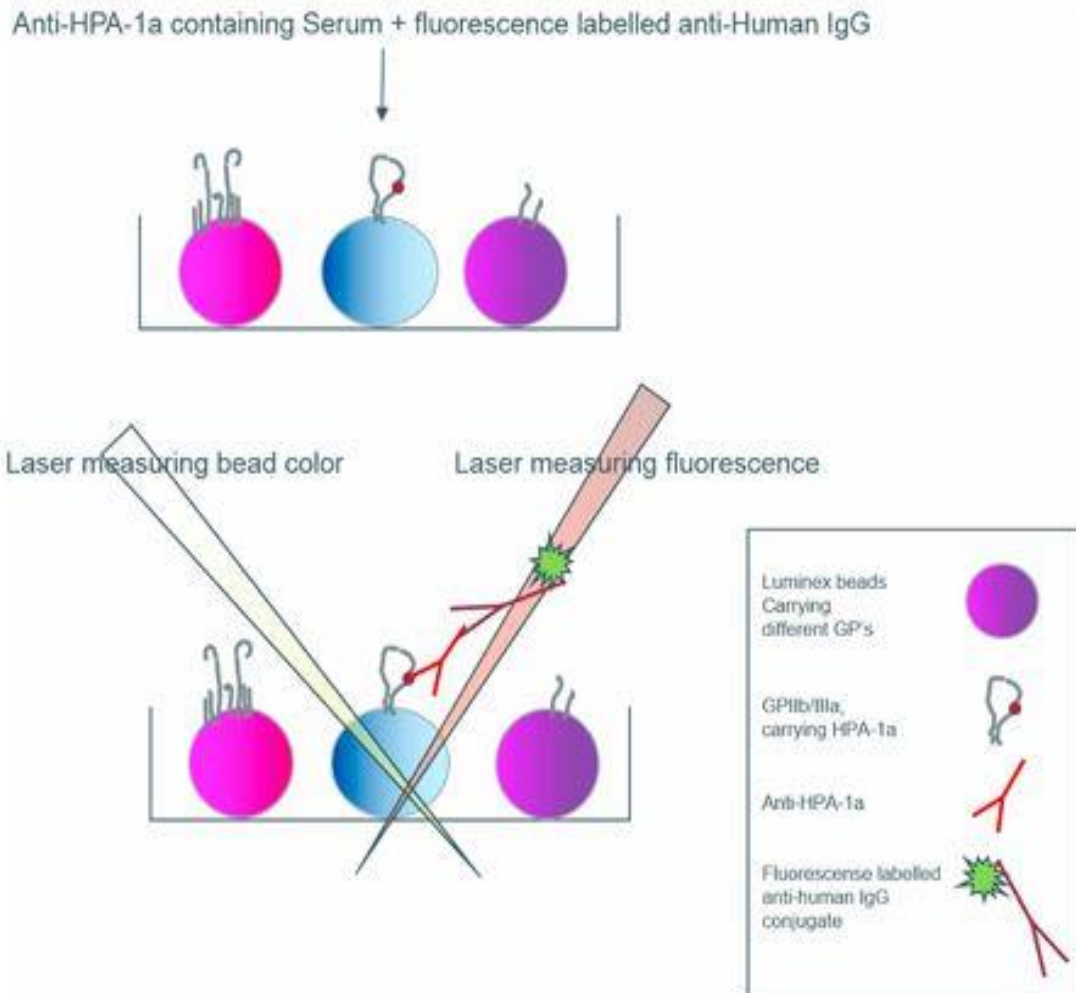
23. IMM 445 Folleto Capture 2017 - Páginas Individuales - ESP [Internet]. [citado 3 de marzo de 2025]. Disponible en: <https://view.highspot.com/viewer/61d2d54452929da38222c4e0>
24. Buakaew J, Promwong C. Platelet antibody screening by flow cytometry is more sensitive than solid phase red cell adherence assay and lymphocytotoxicity technique: a comparative study in Thai patients. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2010;28(2-3):177-84.
25. Costa TH, Bonet-Bub C, Kutner JM. Platelet antibody detection assays: a single-laboratory comparison of MAIPA, PIFT, and microsphere-based multiplex assays Pak-Lx. *Hematol Transfus Cell Ther* [Internet]. 1 de noviembre de 2024 [citado 3 de febrero de 2025];46:S97-102. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2531137924003109>
26. Sarkar RS, Philip J, Jain N. Detection and Identification of Platelet-Associated Alloantibodies by a Solid-Phase Modified Antigen Capture Elisa (MACE) Technique and Its Correlation to Platelet Refractoriness in Multi platelet Concentrate Transfused Patients. *Indian J Hematol Blood Transfus* [Internet]. marzo de 2015 [citado 4 de abril de 2025];31(1):77-84. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4275524/>
27. Uzun G, Lucic J, Marini I, Rigoni F, Lyshy F, Haghghi O, et al. In vitro Generated Megakaryocytes for the Detection of Human Platelet Antigen-Specific Alloantibodies. *Transfus Med Hemotherapy* [Internet]. 15 de julio de 2024 [citado 26 de septiembre de 2025];52(2):152-62. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11975340/>

## ANEXOS

### Anexo N°1. Prueba de Immucor Capture-P Ready Screen. Tomada de (5).

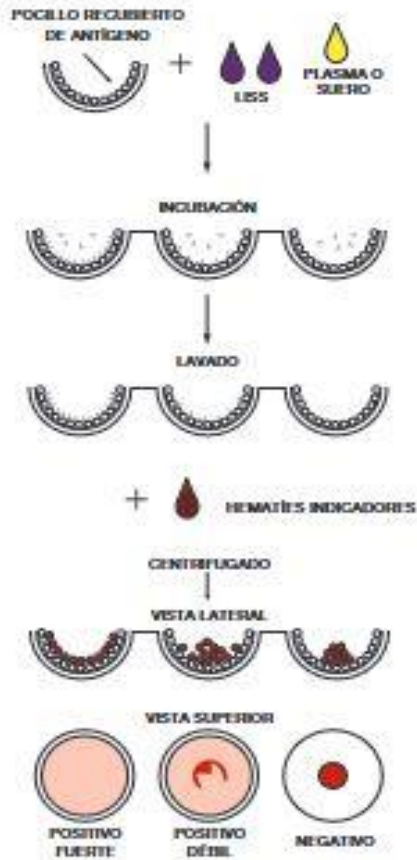


**Anexo N°2. Ensayo de detección de anticuerpos HPA basado en perlas Luminex. Tomada de (18).**



Anexo N°3. Prueba de Innuco Capture-P Ready Screen. Tomada de (23).

**Procedimiento de la Prueba**



**Tabla de Clasificación**

| Hemaglutinación |    | Capturo® |
|-----------------|----|----------|
|                 | 4+ |          |
|                 | 3+ |          |
|                 | 2+ |          |
|                 | 1+ |          |
|                 | 0  |          |