

# ESTABLECER EL “CUT OFF” DE CROSSMATCH POR CITOMETRÍA DE FLUJO Y EVALUACIÓN A PACIENTES EN LISTA DE ESPERA PARA TRASPLANTE RENAL PEDIÁTRICO

Carla Méndez Chacón Rodríguez, Madeley Aliaga Zamudio, Andrea de María Zavaleta González.

Servicio de Patología Clínica Área de Biología Molecular e Histocompatibilidad del Instituto Nacional de Salud del Niño San Borja (INSNSB) – Lima, Perú.

[carlame27@gmail.com](mailto:carlame27@gmail.com); [karimad22@gmail.com](mailto:karimad22@gmail.com), [andreademaria.zg@gmail.com](mailto:andreademaria.zg@gmail.com).

## INTRODUCCIÓN

El trasplante renal sigue siendo la mejor opción para pacientes que sufren de enfermedad renal en etapa terminal (ESRD). El ensayo de prueba cruzada de citometría de flujo (FCXM) es utilizado por la mayoría de los laboratorios de histocompatibilidad a nivel mundial como parte de la evaluación pre trasplante para detectar anticuerpos anti-HLA específicos del donante. El ensayo FCXM es significativamente más sensible que el ensayo de compatibilidad cruzada citotóxico ya que permiten una mejor evaluación inmunológica pre trasplante renal. Nuestro objetivo es establecer el “Cut off” de FCXM y la respectiva evaluación a pacientes en lista de espera para trasplante renal en población pediátrica.

## METODOLOGÍA

Se seleccionaron 26 donantes voluntarios saludables con edades entre 18-35 años. Se extrajeron 8 ml de sangre periférica anti coagulada con EDTA y se utilizó un suero comercial de One Lambda como control negativo (CN).

### Obtención de Linfocitos

Se aislaron linfocitos usando FICOLL HYPaque, Se ajusto la concentración hasta 500 000 células/ml.

### Marcación celular

Se utilizaron los anticuerpos monoclonales Anti Ig-G FITC/Anti CD19-PE/Anti CD3-PerCP para identificar LB y LT respectivamente.

### Análisis por Citometría de Flujo

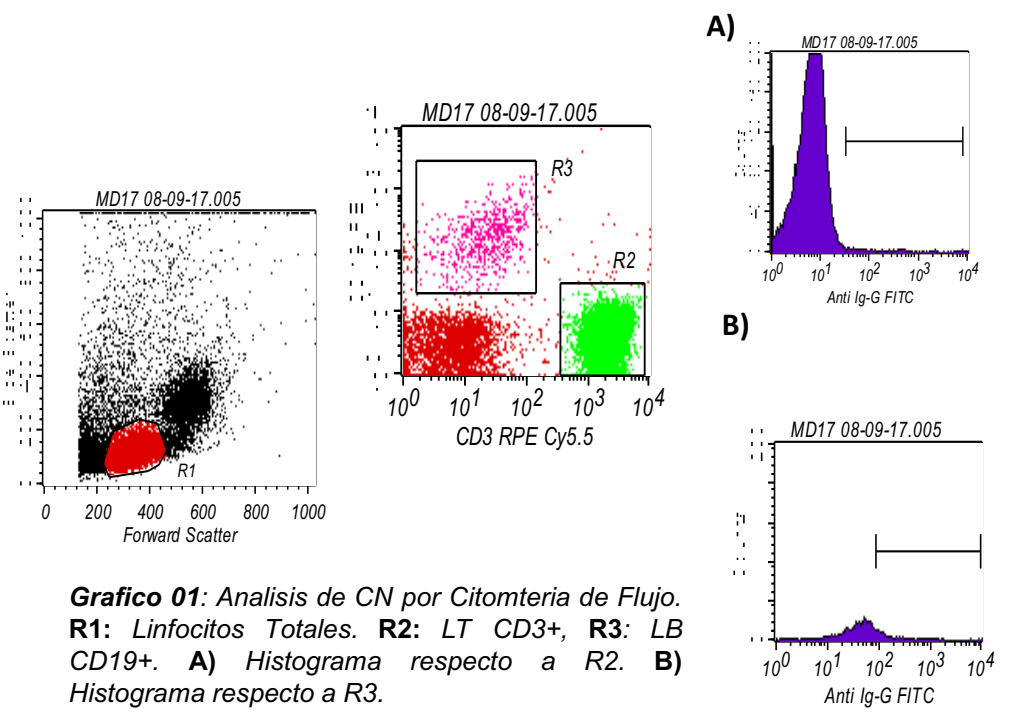
Se utilizó un Citómetro de flujo de 4 colores FACS Calibur.

Los valores de la mediana de la fluorescencia Media del canal (MCF) se obtuvieron a partir del histograma de Ig-G FITC respecto de las Gates R2 y R3 (linfocitos T Y B respectivamente).

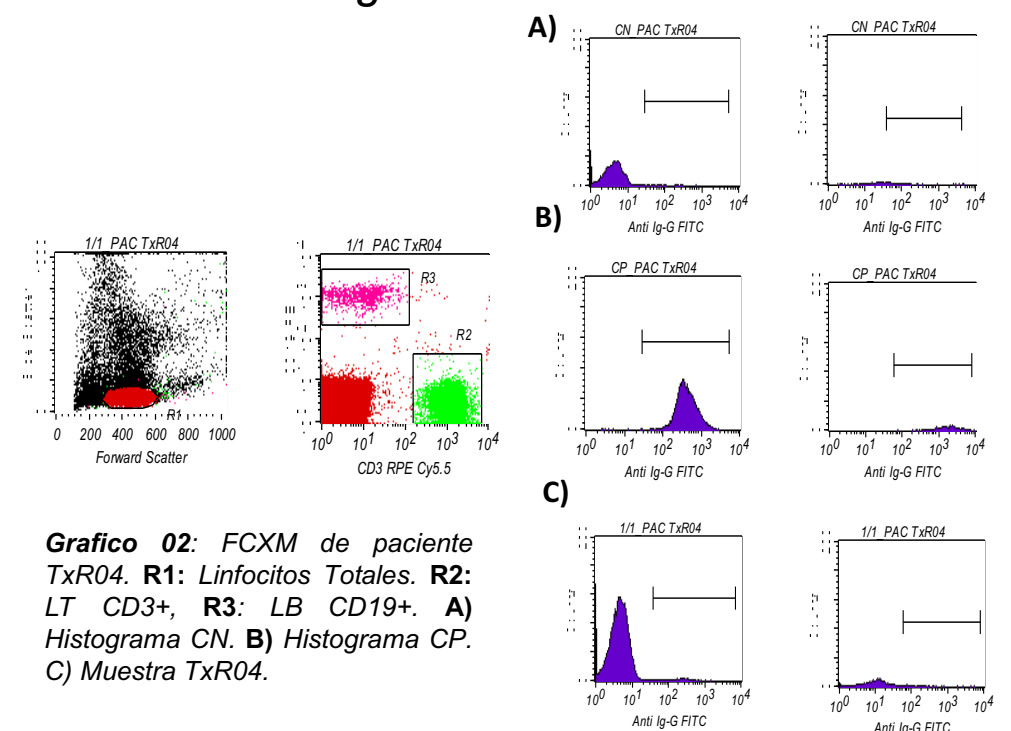
## RESULTADOS

Se estableció el rango en 2DS para linfocitos B y linfocitos T tal como se muestra en el siguiente cuadro.

	LT	LB
Rango	5.4 – 10.2	46.4 – 122.4



El “Shift in Median Channel Fluorescence” (SMCF) se calculó restando a la “fluorescencia media del canal” de la muestra problema el (MCF) del control Negativo.



## CONCLUSIONES

Los rangos o “cut off” deben ser establecidos por cada laboratorio según las condiciones técnicas del mismo como lote de reactivos, equipo, tipo de suero control empleado, etc.

	MCS 256 Scale	MCS 1024 Scale	Ratio
T CELL	>10-15	>40-60	>1.0
B CELL	>25-30	>100-120	>1.2

(fuente: Flow Cytometric T and B Cell Crossmatching, Charles W. Hamrick and Lauralynn K. Lebeck).

Los resultados de FCXM obtenidos en nuestros pacientes tuvieron una media de SMCF de 0.8 y – 4 para LT y LB respectivamente, siendo negativos y corroborándose con los estudios del Panel reactivo de anticuerpos (PRA) realizados previamente (0% PRA).