

DIAGNÓSTICO MOLECULAR

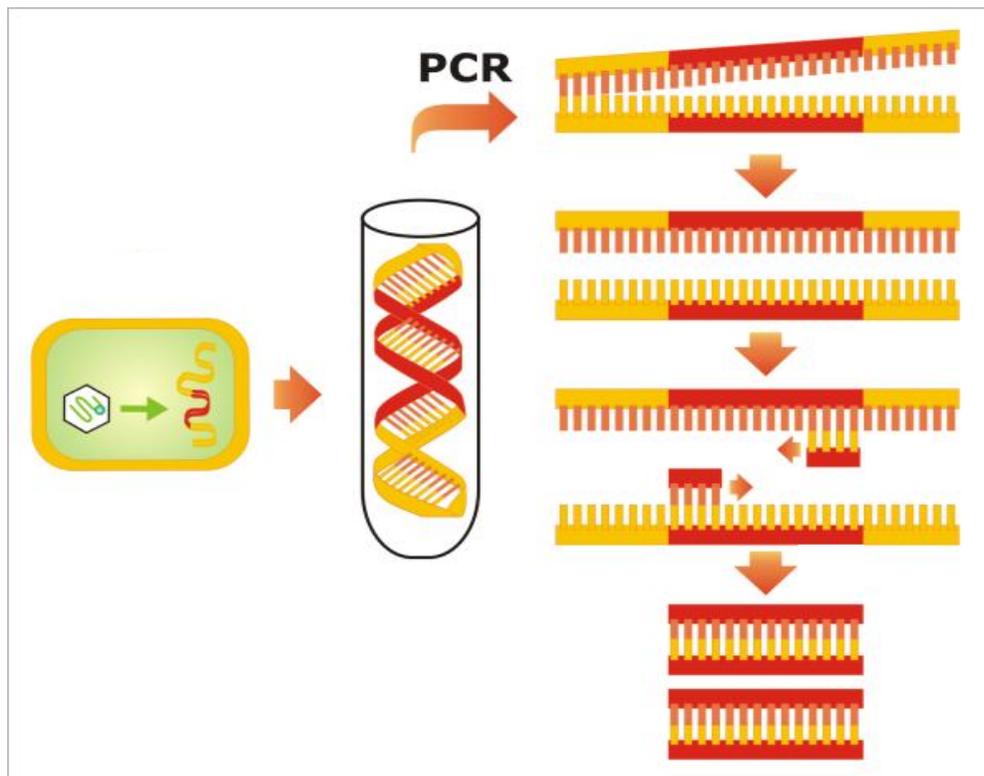
CMV Y EBV



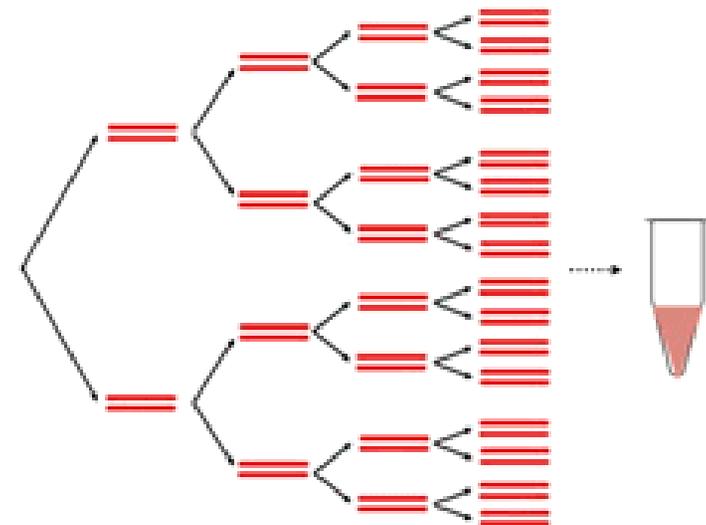
DIAGNÓSTICO MOLECULAR



REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)



ALTA SENSIBILIDAD Y
ESPECIFICIDAD



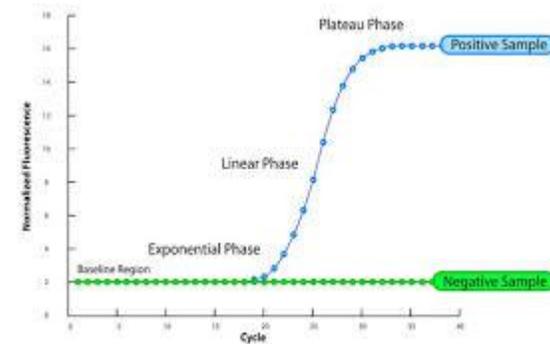
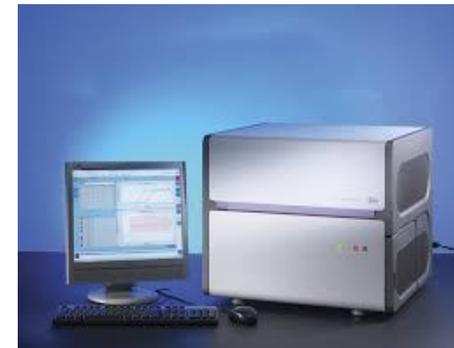
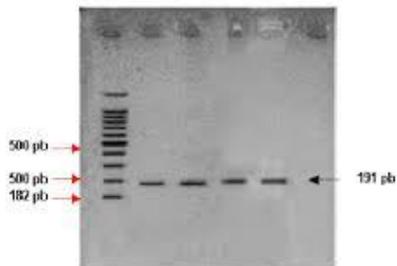
DIAGNÓSTICO MOLECULAR



REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

PCR PUNTO FINAL

PCR EN TIEMPO REAL

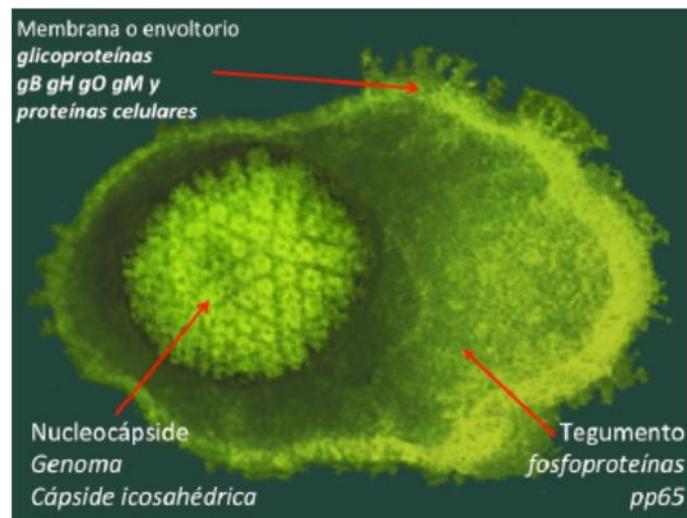


CITOMEGALOVIRUS (CMV)



CARACTERÍSTICAS

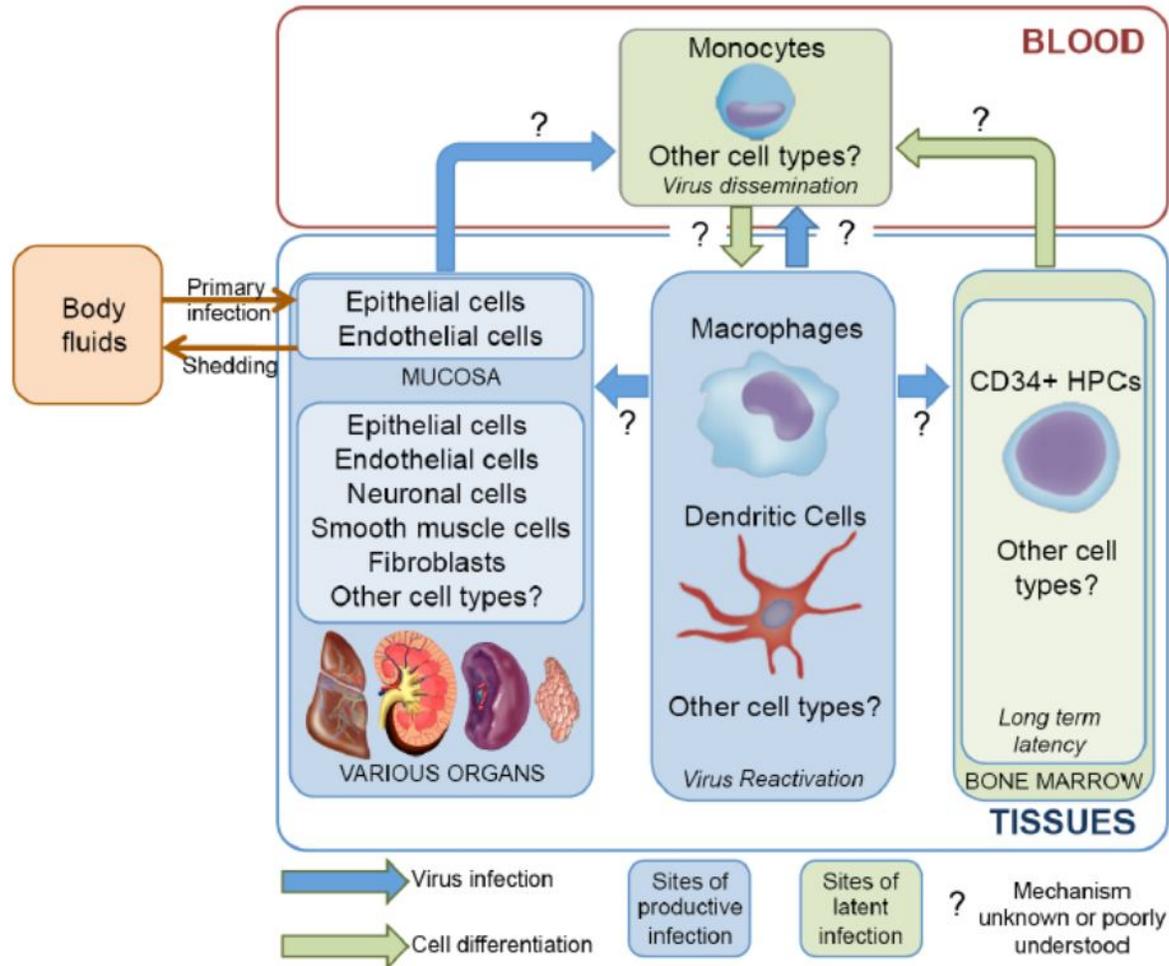
- Virus perteneciente a la familia *Herpesviridae*, conocido como Herpes tipo 5.
- ADN doble cadena lineal. Tamaño virión: 200-300nm



CITOMEGALOVIRUS (CMV)



PATOGENESIS



CITOMEGALOVIRUS (CMV)



DIAGNÓSTICO MOLECULAR

— PCR en tiempo real cualitativa.

— PCR en tiempo real cuantitativa (CMV LCSet- TIBMoIBiol Roche)



CITOMEGALOVIRUS (CMV)

DIAGNÓSTICO

PCR en tiempo real cualitativa.

- Se detecta una región del gen de expresión inmediata temprana del CMV integrado en células PMN de sangre periférica o del virus libre.
- Diagnóstico en pacientes inmunosuprimidos (infectados con el HIV, trasplantados, etc.) y en recién nacidos de madres seropositivas para CMV.
- Tipo de muestras: Sangre, suero o plasma/EDTA
 Líquido cefalorraquídeo
 Orina
 Material de biopsia

Informe de resultados

NO DETECTABLE	No se detectó ADN de CMV
DETECTABLE	Se detectó ADN de CMV

CITOMEGALOVIRUS (CMV)

DIAGNÓSTICO



PCR en tiempo real cuantitativa (CMV LCSet- TIBMoIBiol Roche)

- Método estandarizado. Utiliza control interno de la PCR.
- Utilidad para definir riesgo para desarrollar la enfermedad en pacientes trasplantados y pacientes portadores de HIV; seguimiento del tratamiento antiviral; diagnóstico de la fase aguda de la infección.
- Tipo de muestras: Sangre o plasma/EDTA

CITOMEGALOVIRUS (CMV)

DIAGNÓSTICO



- Límite de detección y cuantificación: 500 copias/ml (varía según el test)
- Rango de cuantificación: 500 a 50000000 copias/ml.
- Cut off varía entre 2000-5000 copias/ml

Informe de resultados

NO DETECTABLE	CV de CMV por debajo de la sensibilidad del método.
DETECTABLE	CV en copias/ml

La tendencia de la CV es más importante que el valor absoluto para definir la terapéutica ⇒ Descenso significativo >0.7 logs

CITOMEGALOVIRUS (CMV)



DIAGNÓSTICO

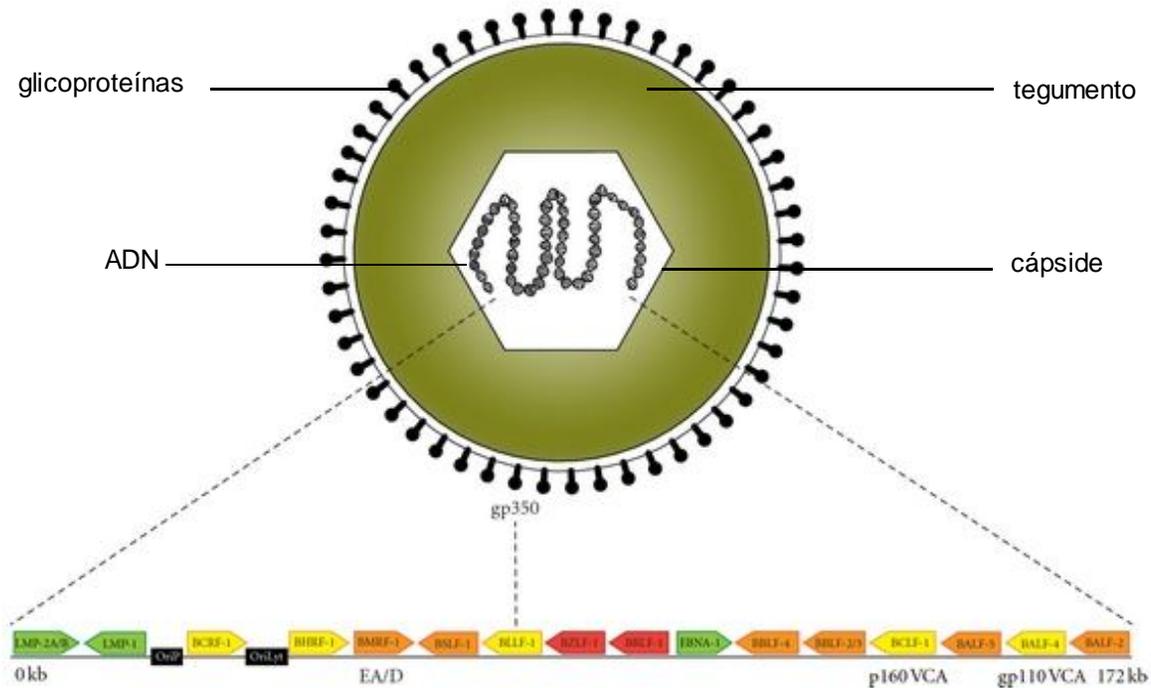
Condición clínica	Protocolo a utilizar	Interpretación
Recién nacido	Aislamiento viral en orina y saliva	Primera semana Estudios epidemiológicos
Recién nacido	Carga Viral en plasma	CMV congénito
Infecciones en personas inmunocompetentes (S. mononucleosis, hepatitis, etc.)	IgG sérica IgM sérica Avidez de IgG si IgM+	Si IgM+ y baja avidéz IgG (<60%) = infección aguda
Embarazadas	IgG sérica IgM sérica Avidez de IgG si IgM+	Si IgM+ y baja avidéz IgG (<60%) = infección aguda Riesgo de transmisión al producto
Trasplantado donador	IgG sérica	Seroprevalencia Clasificación de riesgo de transmisión al receptor
Trasplantado receptor	IgG sérica IgM sérica Avidez de IgG si IgM+	Si infección aguda, carga viral
Trasplantado post trasplante	Carga viral cada 2 semanas	Si >28 copias/ml riesgo alto de enfermedad por CMV, dar tratamiento antiviral
VIH/SIDA	IgG sérica IgM sérica Avidez de IgG si IgM+	Si IgM+ y baja avidéz IgG (<60%) = infección aguda Evaluación clínica y carga viral
VIH/SIDA CD4+ <100 células	IgG sérica	Si + evaluación clínica y carga viral

VIRUS EPSTEIN-BARR (EBV)

CARACTERÍSTICAS



- Virus perteneciente a la familia *Herpesviridae*, conocido como Herpes tipo 4.
- ADN doble cadena lineal con mas de 100 genes. Tamaño virión: 120-180nm



VIRUS EPSTEIN-BARR (EBV)



DIAGNÓSTICO

PCR en tiempo real (LightCycler EBV Quantification Kit-ROCHE).

- Se detecta una región del ADN de EBV en forma cualitativa o cuantitativa.
- Método estandarizado. Utiliza control de extracción en la PCR.
- Diagnóstico y monitoreo en pacientes trasplantados en riesgo de sufrir enfermedades relacionadas a EBV (ej. PTLD), con VIH u otra inmunosupresión.
- Tipo de muestras: Plasma/EDTA
 - Líquido cefalorraquídeo
 - Material de biopsia
 - Otro líquidos biológicos

Informe de resultados PCR cualitativa

NO DETECTABLE	No se detectó ADN de EBV.
DETECTABLE	Se detectó ADN de EBV.

VIRUS EPSTEIN-BARR (EBV)



DIAGNÓSTICO

- Límite de detección: 500 copias/ml (varía según el test)
 - Rango de cuantificación: 5000 a 50000000 copias/ml.
 - Cut off: no hay consenso. Depende del material clínico analizado.
-
- Pacientes inmunocompetentes con infecciones sintomáticas: ~5000 copias/ml en los primeros 7 a 10 días de enfermedad.
 - Pacientes trasplantados: 5000 a >50000 copias/ml.
 - Estado de latencia: ~1000 copias/ml.

VIRUS EPSTEIN-BARR (EBV)



DIAGNÓSTICO

Informe de resultados PCR cuantitativa

NO DETECTABLE	CV de EBV por debajo de la sensibilidad del método.
DETECTABLE	CV en copias/ml

- Permite monitorear respuesta al tratamiento:

Disminución de CV \Rightarrow Buena respuesta (continúa hasta <1000 cop/ml)

Sin modificación por 4 semanas \Rightarrow Debe modificarse tratamiento

Para tener en cuenta...



Un resultado negativo no descarta la presencia de CMV o EBV en cantidades inferiores a la sensibilidad del método.

Los resultados deben interpretarse en base a la clínica del paciente y otros hallazgos de laboratorio.

Muchas gracias!

