Curso Preparatorio en Diagnóstico de laboratorio en la Clínica Médica de hoy

Módulo 5

Bioq César Yené

Fiebre de Origen Desconocido (FOD)

Causas más comunes

- Infecciones 40%
- Neoplasias 20 – 25 %
- Colagenopatías 10 – 15%
- Otras 25 %

Laboratorio General

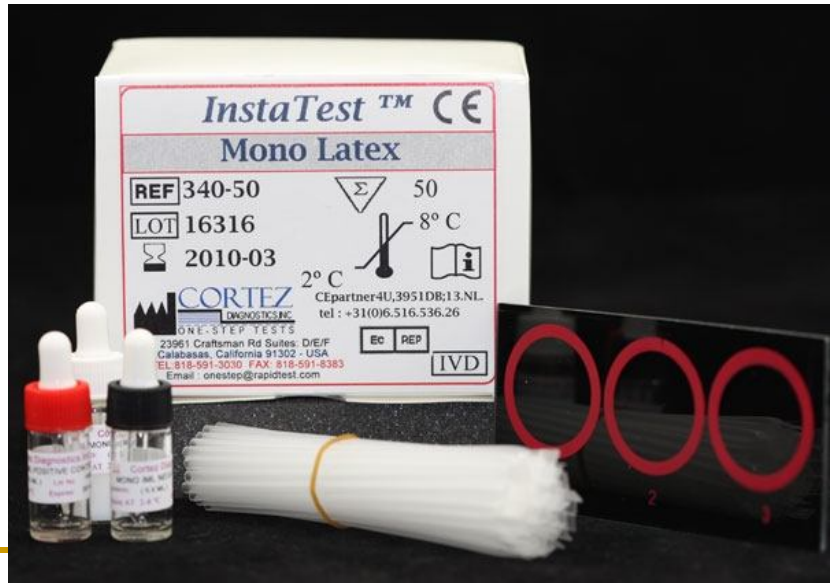
- Hemograma con plaquetas
- Orina completa.
- GOT, GPT, FAL, GGT, proteínas totales.
- Proteinograma por electroforesis
- Proteínas de fase aguda (PCR).
- Ac a HIV
- Serología
- Hemocultivos

Infecciones

Mononucleosis

Causada por EBV

- Determinaciones de Laboratorio
- Monotest
- Títulos clínicamente significativos a partir de 1/8



Infecciones

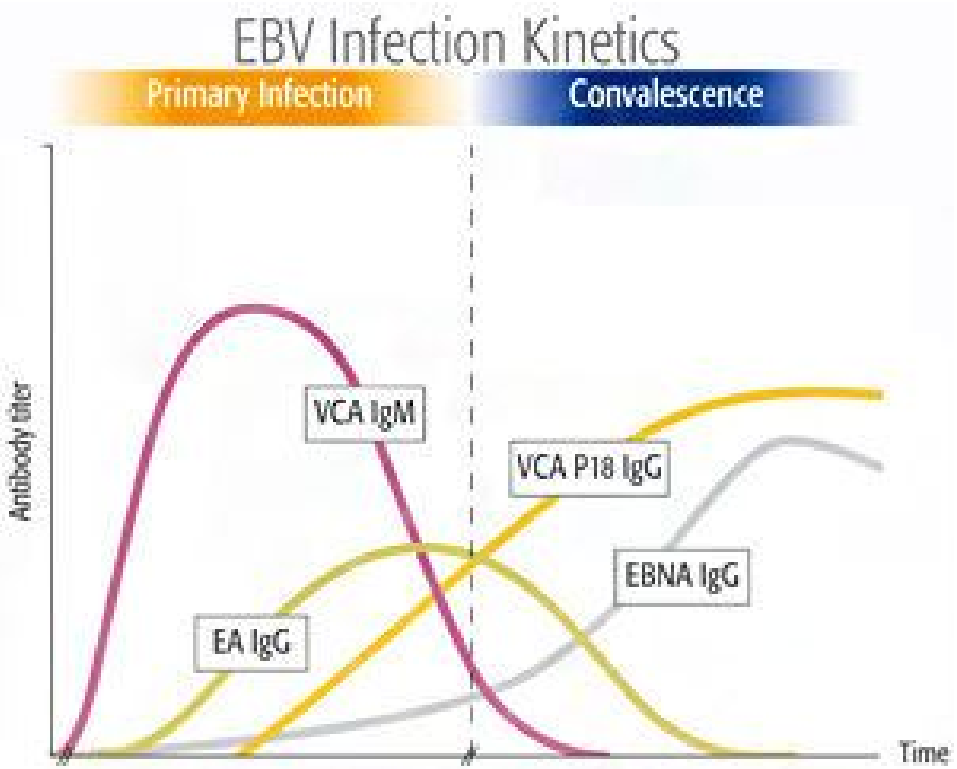
Mononucleosis

- Acs a EBV

Ac a VCA (IgM e IgG).

Ac a nuclear Antigen Epstein Baar

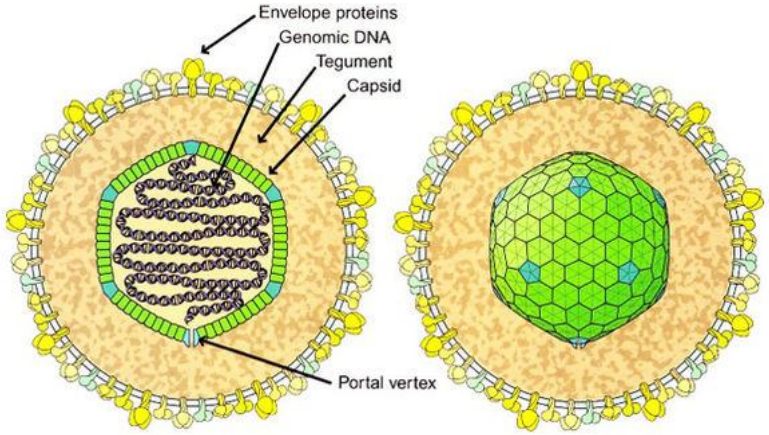
Ac a Early Antigen Epstein Baar



Molecular

EBV DNA Cualitativo

EBV DNA Cuantitativo



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.
- 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

  Otros 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 ⇨ Buena respuesta (continúa hasta <1000 cop/ml)

  Sin modificación por 4 semanas ⇨Debe modificarse tratamiento

Infecciones

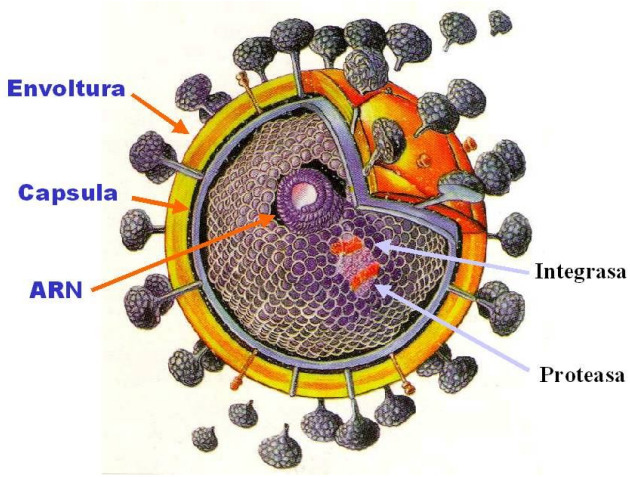
Causadas por CMV

- Determinaciones de Laboratorio

- Acs a CMV

Ac a CMV IgM

Ac a CMV IgG



Molecular

CMV DNA Cualitativo

CMV DNA Cuantitativo

Citomegalovirus (CMV)

DIAGNÓSTICO

PCR en tiempo real cuantitativa (CMV LCSet- TIBMolBiol 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

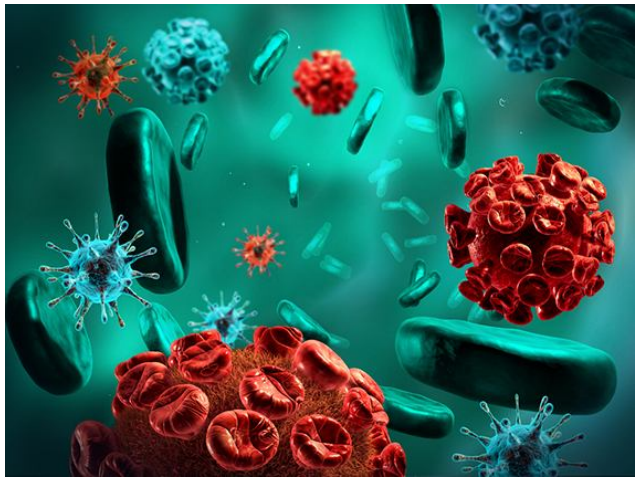
NO DETECTABLE	CV de CMV por debajo de la sensibilidad del método.
DETECTABLE	CV en copias/ml

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

Citomegalovirus (CMV)

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 avidez IgG (<60%) = infección aguda
Embarazadas	IgG sérica IgM sérica Avidez de IgG si IgM+	Si IgM+ y baja avidez 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 avidez IgG (<60%) = infección aguda Evaluación clínica y carga viral
VIH/SIDA CD4+ <100 células	IgG sérica	Si + evaluación clínica y carga viral

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.

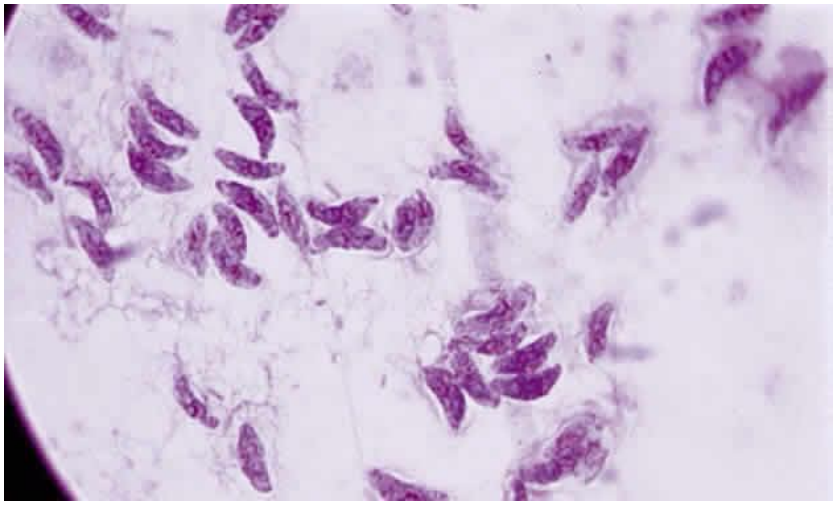
Infecciones

Enfermedad del arañazo del gato

- Ac a Bartonella henselae IgM
- Ac a Bartonella henselae IgG

Infecciones

Toxoplasmosis



- Ac a Toxoplasma gondii
- IgG e IgM

- Determinaciones por:

- IFI
- Electroquimioluniniscencia
- HAI
- Fijación de complemento (en desuso)

Test de avidez
Muestras pareadas

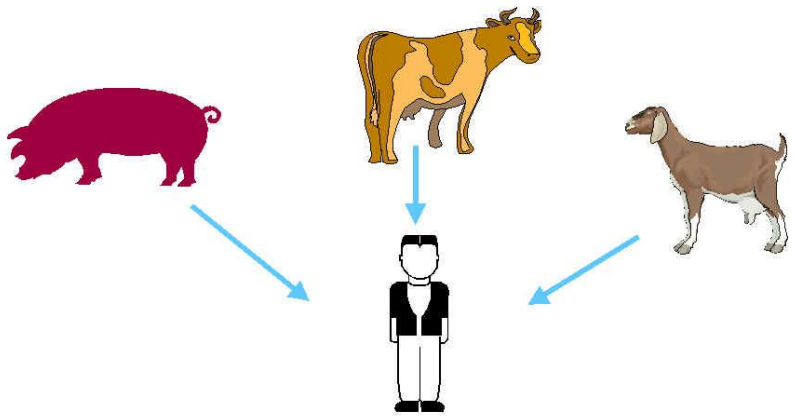
Molecular

Toxoplasma gondii PCR

Infecciones

Brucelosis

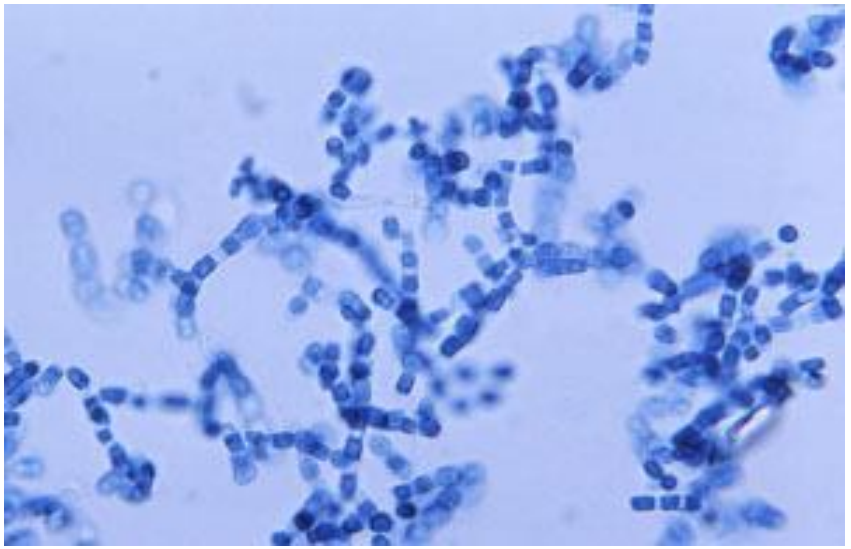
- Detección de Acs
- Reacción de Huddlesson (con y sin 2 ME).
- Reacción de Wright (con y sin 2 ME).
- Ac a Brucella (IgM e IgG).

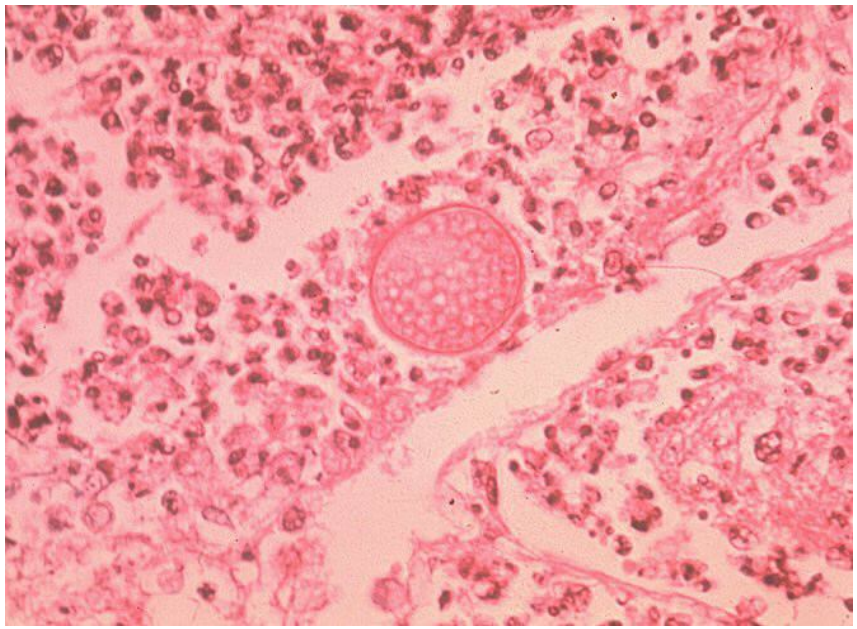


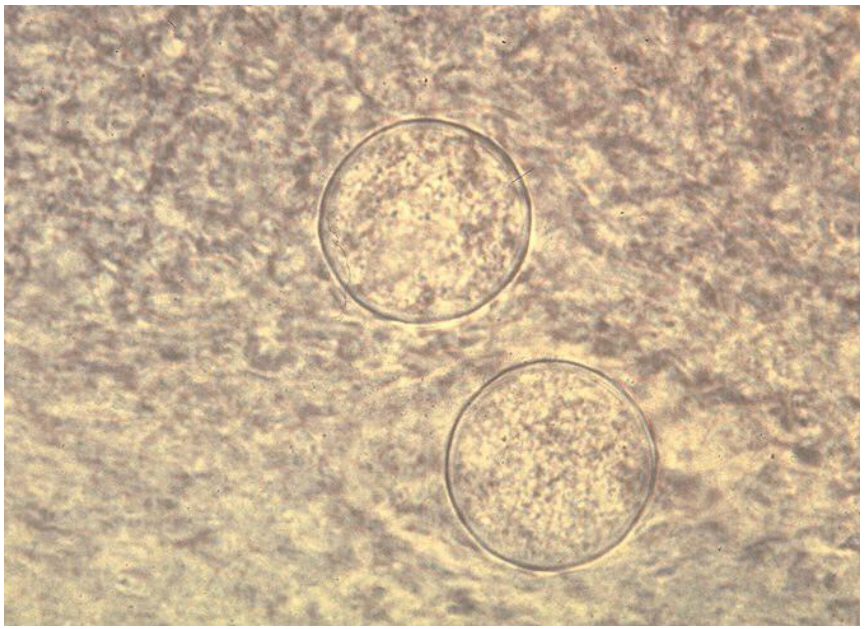
Infecciones

Hongos

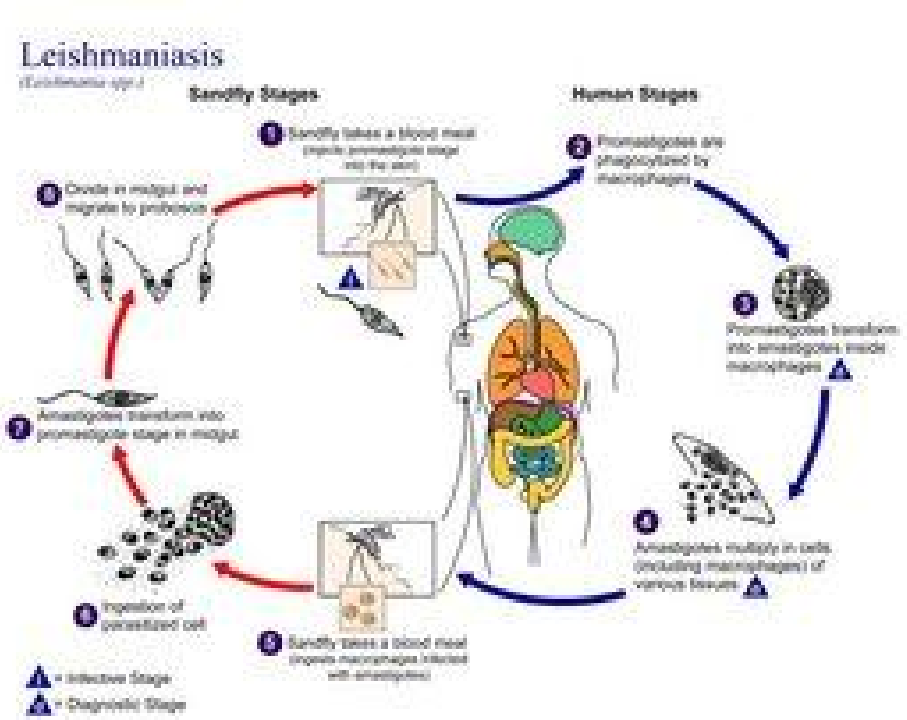
- Coccidioides







Infecciones



Leishmaniasis

- Zoonosis provocada

Por Leishmania.

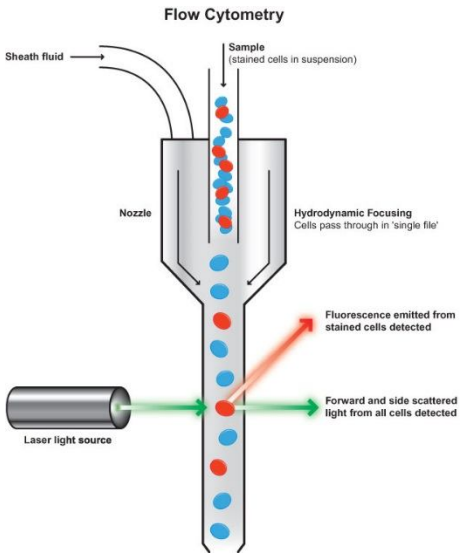
Diagnóstico: Visualización

Directa del parásito en el sitio de la lesión con tinción

De Giemsa

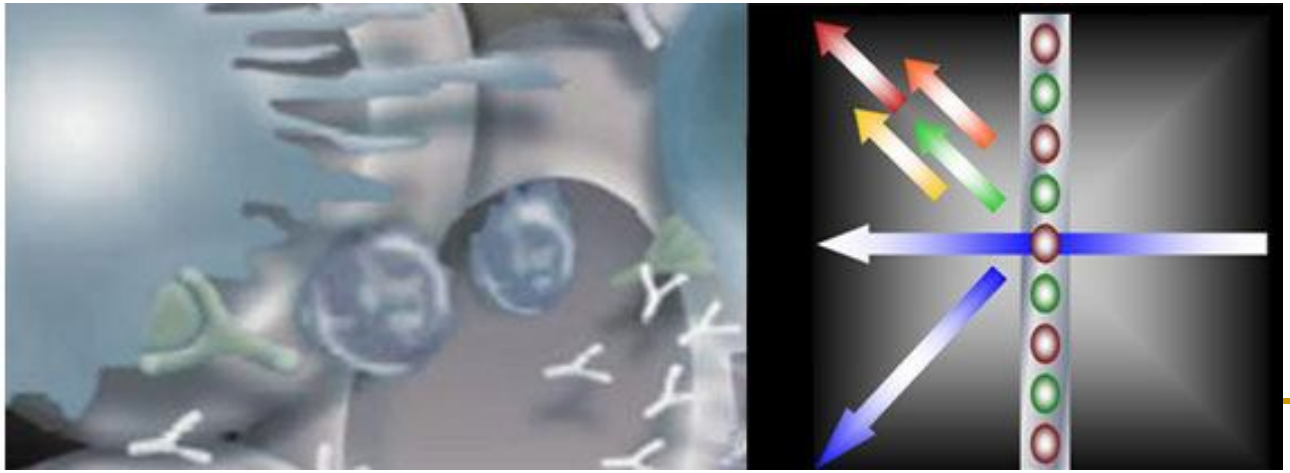
Neoplasias

Desórdenes Hematológicos:



- Síndromes mieloproliferativos
- Linfomas
- Leucemias

- El laboratorio realiza Inmunotipificación por Citometría de Flujo



Neoplasias

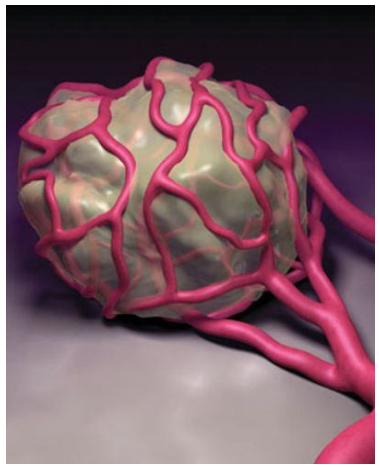
Carcinomas del tracto digestivo

- Cáncer de colon
- Cáncer de páncreas
- Cáncer de Hígado

- Marcadores tumorales:

- CA 19.9
- CEA
- Alfa Feto Proteína

Marcadores Tumorales

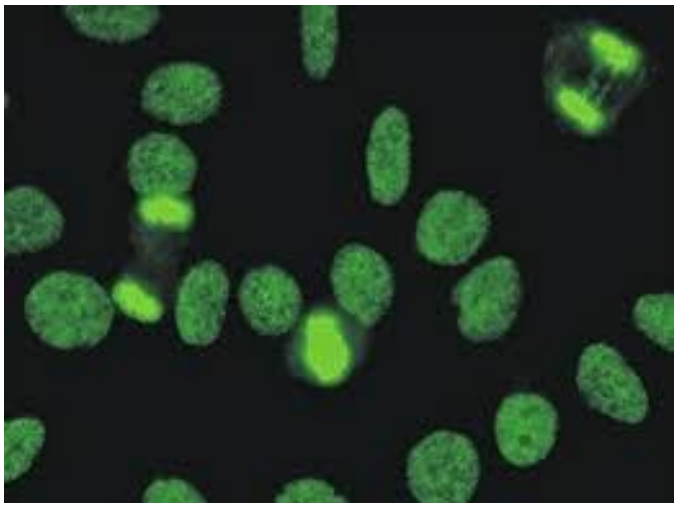


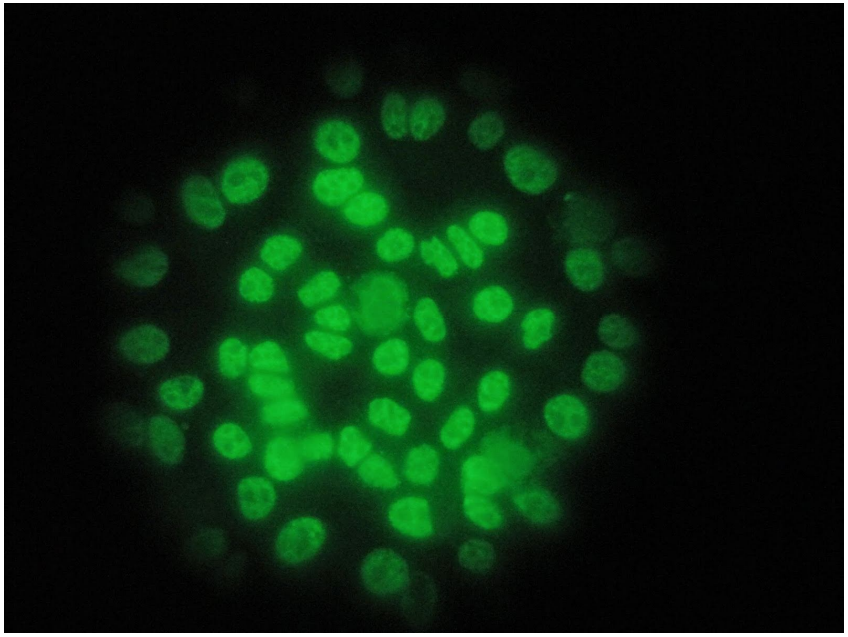
Marcador ideal

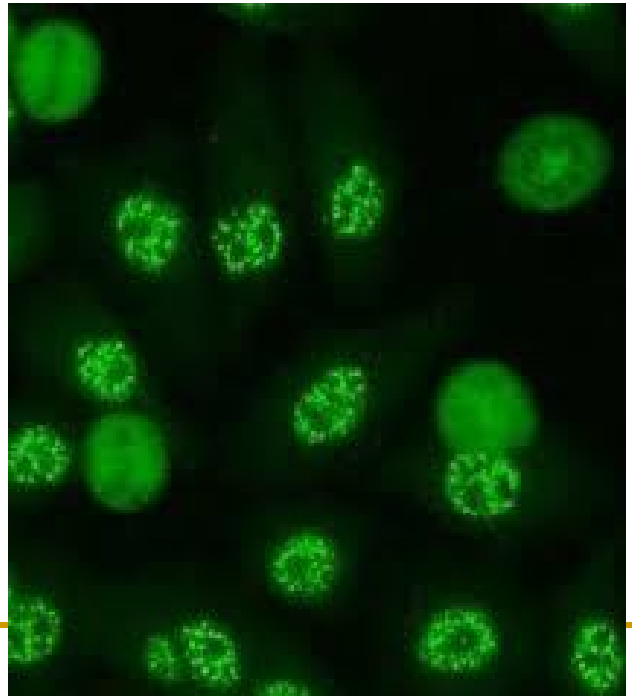
- Debe ser específico para un tipo de tumor dado.
- No detectable en pacientes sanos
- Sensible para el diagnóstico temprano o screening
- Concentración sea proporcional al tamaño del tumor
- Vida media corta para poder valorar respuesta al tratamiento.
- Aumentos y descensos predecibles, relacionados a respuesta tumoral.
- Fácilmente accesible y medible.

Colagenopatías

- FAN (ANA)
- La presencia de estos Acs es fundamental para el diagnóstico y exclusión de las colagenopatías.
- Es una prueba poco específica.



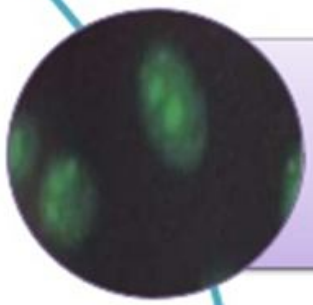




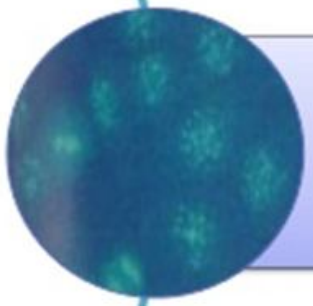
Impronta: células Hep-2 o Hígado o riñón de ratón

Colagenopatías

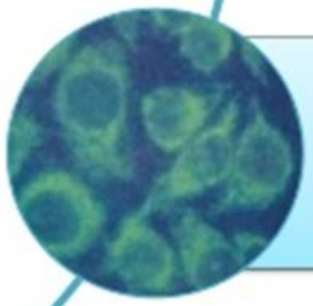
Título y patente



Patrón nucleolar→ Anticuerpos dirigidos contra componentes del nucléolo, puede a su vez dar patrón moteado u homogènico. Antígenos: Topoisomerasa-1 o Scl-70 y RNAp I, II y III. Frecuente en formas difusas escleroderma. Compromiso renal y pulmonar.



Patrón centromérico→ Se produce contra los centrómeros, similar al moteados pero puntos de fluorescencia nuclear son uniformes, mas grandes y fáciles de contar. En síndrome de CREST, < frecuente en enf. Raynaud, esclerodermia difusa, LES.



Patrón citoplasmático→ Anticuerpos contra componentes del citoplasma: ribosomas, mitocondrias, aminoaciltRNA sintetasa y proteínas citoesqueleto. En Enf. Inflamatorias del musculo, Enf. Hepáticas y LES (anti- P ribosomal)

Colagenopatías

Colagenopatías

- ENA (Antígenos nucleares extraíbles)
- Son un grupo de Acs dirigidos contra Antígenos nucleares que son extraíbles con solución salina.
- Ellos son:
- Anti RNP
- Anti Sm
- Anti SS-A/Ro y SS-B/La
- Anti Jo-1
- Anti Scl-70.

- Pueden determinarse por ELISA.

Colagenopatías

Autoanticuerpo	Enfermedades
Anti - DNA	LES, cutáneo y renal.
Anti – Sm	LES
Anti - RNP	EMTC.
	Síndrome de Sjögren, LES seronegativo
Anti -SS-A o Ro Anti -SS-B o La	LES neonatal.
Anti -SCL 70 (topoisomerasa 1)	Esclerodermia.
Anti -Centromero	CREST
Anti -Cadiolipina	LES, Síndrome antifosfolípido.
ANCA	Granulomatosis de Wegener
Factor Reumatoideo	Artritis reumatoidea.
Anti -Jo-1	Dermatopoliomiositis

Colagenopatías

Factor reumatoideo

- Es una IgG dirigida contra la fracción constante de otra IgG, IgM y IgA.
- El FR IgG se detecta por la técnica de aglutinación de partículas de látex.
- Para el diagnóstico de artritis reumatoide y es positiva en el 80%.
- El FR IgM o IgA se detecta por nefelometria que constituyen el factor reumatoideo “oculto”.

Colagenopatías

FACTOR REUMATOIDEO + EN LAS ENFERMEDADES REUMÁTICAS

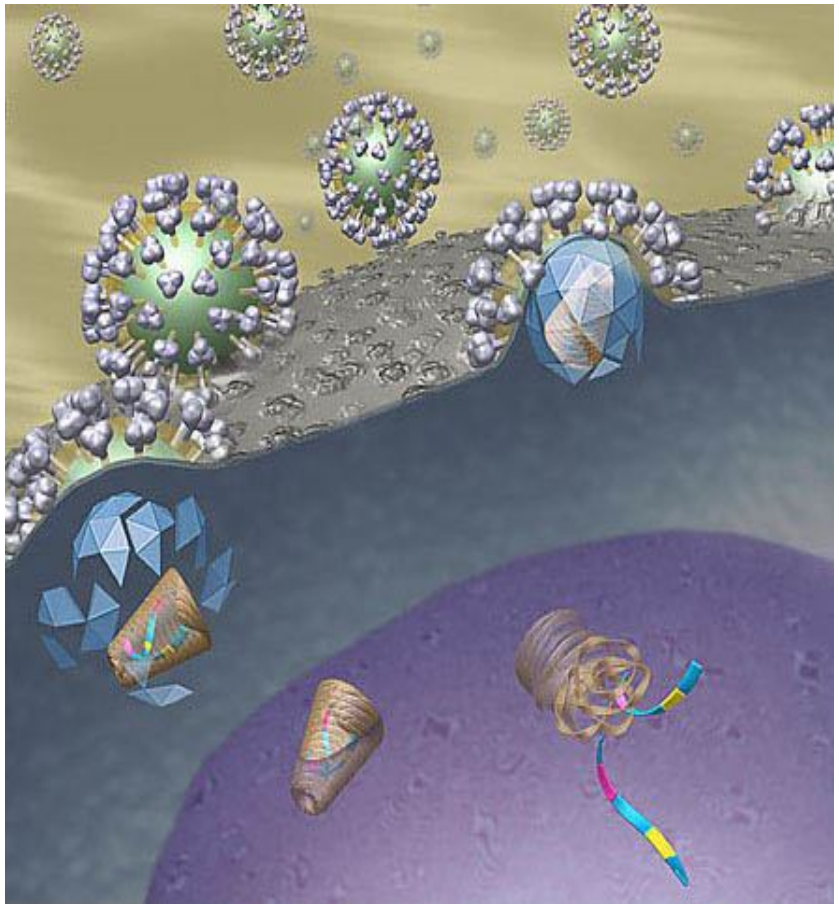
ENFERMEDAD	%
ARTRITIS REUMATOIDEA	50-90
SÍNDROME DE SJÖGREN	75-95
LUPUS ERITEMATOSO	15-35
ENFERMEDAD MIXTA DEL TEJIDO CONJUNTIVO	50-60
ESCLERODERMIA	20-30
DERMATOPOLIMIOSITIS	5-10
CRIOGLOBULINEMIA	40-100

Colagenopatías

Enfermedades reumáticas en las que el FR suele ser Negativo

- OSTEOARTROSIS.
- POLIMIALGIA REUMÁTICA.
- ESPONDILOARTROPATIAS SERONEGATIVAS.
- ENFERMEDAD POR DEPÓSITO DE CRISTALES.
- ENFERMEDAD DE LYME.
- ENFERMEDADES METABÓLICAS Y ENDOCRINOLÓGICAS.
- AMILOIDOSIS.
- INFECCIÓN POR PARVOVIRUS.
- ENFERMEDAD DE TEJIDOS BLANDOS.

Colagenopatías



- Factor reumatoideo

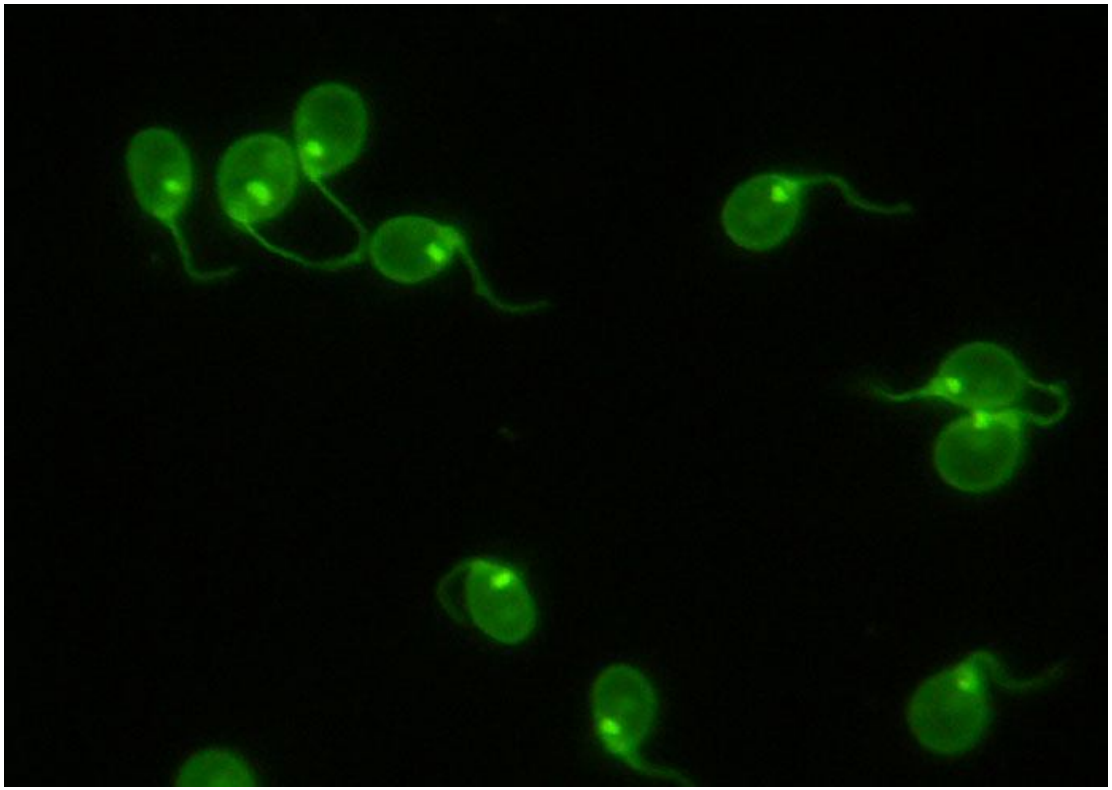
Se puede determinar por aglutinación en placa (látex) o por Inmunoturbidimetría.

- Rose Ragan (utiliza una Ig de ratón).

- Ac a péptido cíclico citrulinado (Ac a CCP).

Colagenopatías

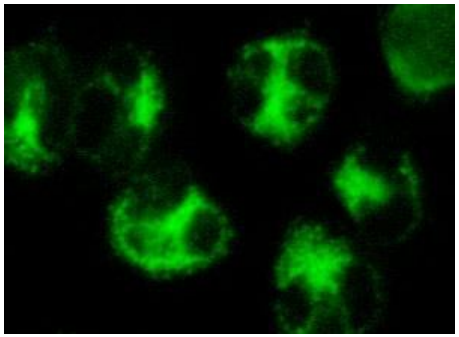
Ac a ADN

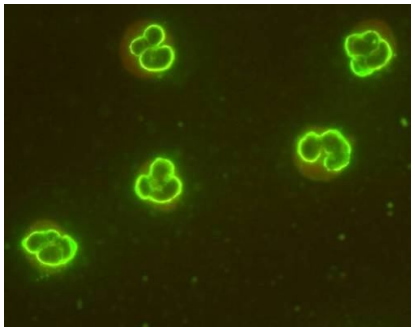


- La Crithidia lucillae se utiliza para determinar Ac a ADN ante sospecha de LES.
- La prueba es positiva en el 70% de los casos.

Colagenopatías

ANCA C y ANCA P

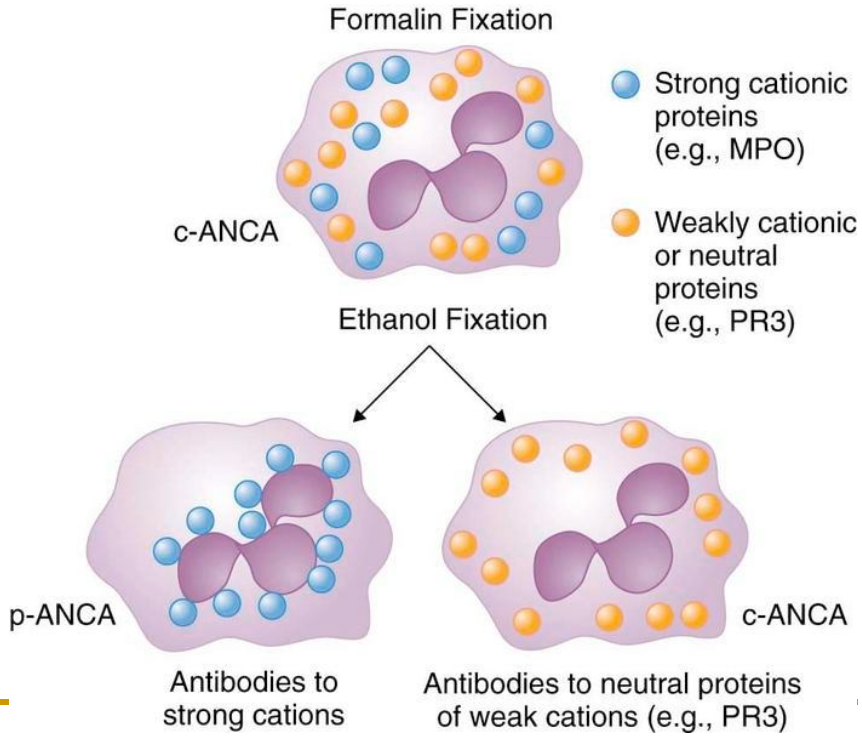




- Útiles para diagnóstico y seguimiento de:

- Granulomatosis de Wegener
- Periarteritis Nodosa
- Poliarteritis Microscópica
- Vasculitis asociada a AR
- Vasculitis necrotizante

Métodos
IFI
ELISA



Otras

- Calprotectina
  (Enfermedad inflamatoria intestinal vs Colon Irritable).

- Tiroiditis sub aguda
  (TSH, FT4, T3, Ac a tiroideos).

- Neutropenia:
  Hemograma

¡Gracias!

cyene@cibic.com.ar