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

Módulo 6



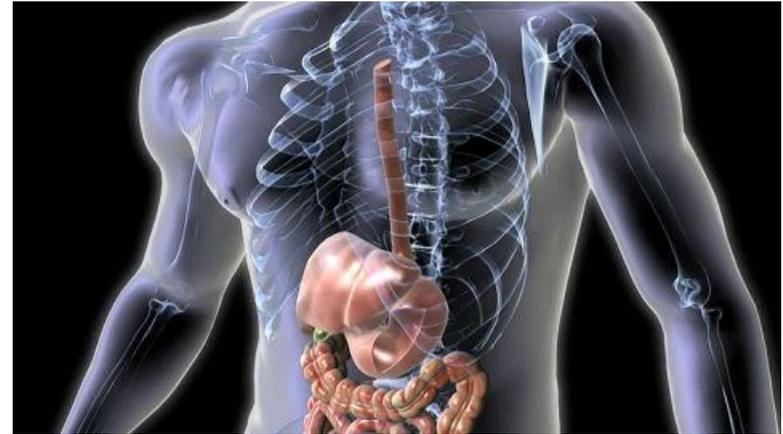
Bioq César Yené

Laboratorio Gastroenterología



Laboratorio General

- GOT (AST)
- GPT (ALT)
- Fosfatasa Alcalina
- Gamma Glutamil Transpeptidasa
- Colinesterasa
- Proteínas Totales
- Tiempo de Protrombina
- Proteinograma por electroforesis



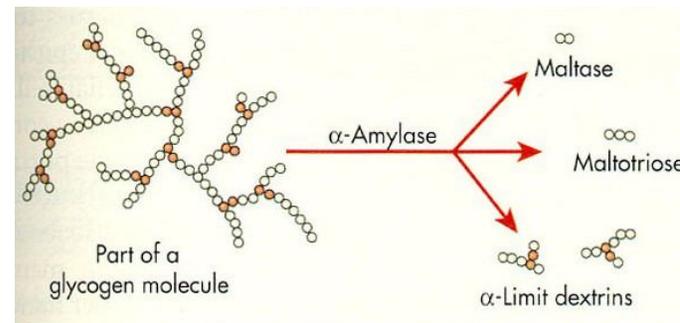
Amilasa

- Es una enzima que cataliza hidrólisis de los enlaces alfa 1-4 de los hidratos de carbono para formar azúcares simples.
- Se produce principalmente en las glándulas salivales (sobre todo en las glándulas parótidas) y en el páncreas.

- Muestras: suero u orina.

- Valores de referencia:

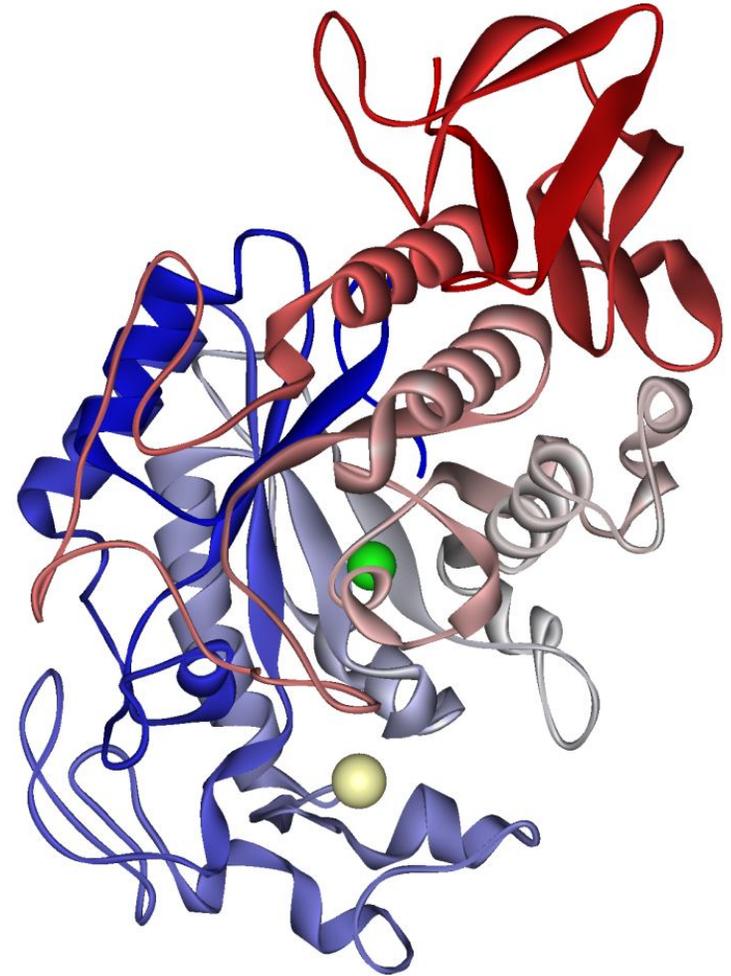
suero: 28 – 100 UI/L orina: < 460 UI/L



- Puede dosarse la isoenzima pancreática o la actividad total.

Macroamilasemia

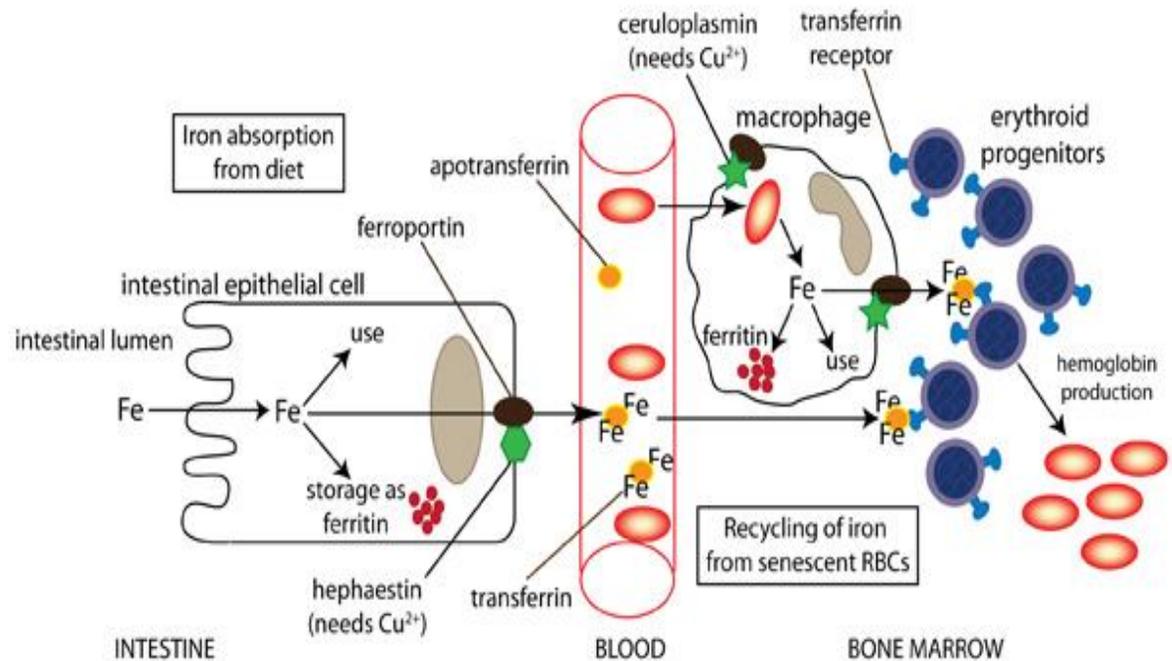
- Complejo macromolecular formado por la unión de la Amilasa sérica con otras proteínas.
- Útil para discriminar si el aumento de Amilasa es de origen pancreático.
- Valores de Amilasa Alta en suero y normales en orina.
- Procesamiento: dosaje de la enzima pre y postprecipitación con PEG 6000.
- **Lipasa:** De origen pancreático. Su función principal es catalizar la hidrólisis de triacilglicerol a **glicerol** y **ácidos** grasos libres.
- Valores de referencia: 13 – 60 UI/L
- Muestra: suero



Perfil Férrico

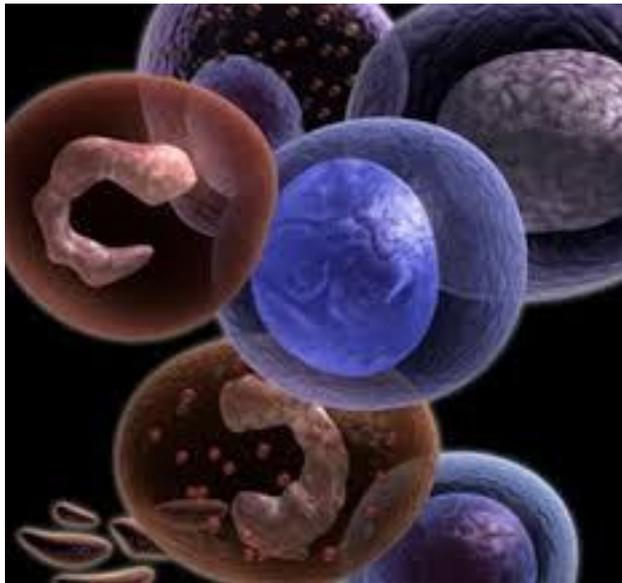
Dosaje de:

- Hierro sérico
- Transferrina
- % saturación de la Transferrina (TIBC)
- Ferritina



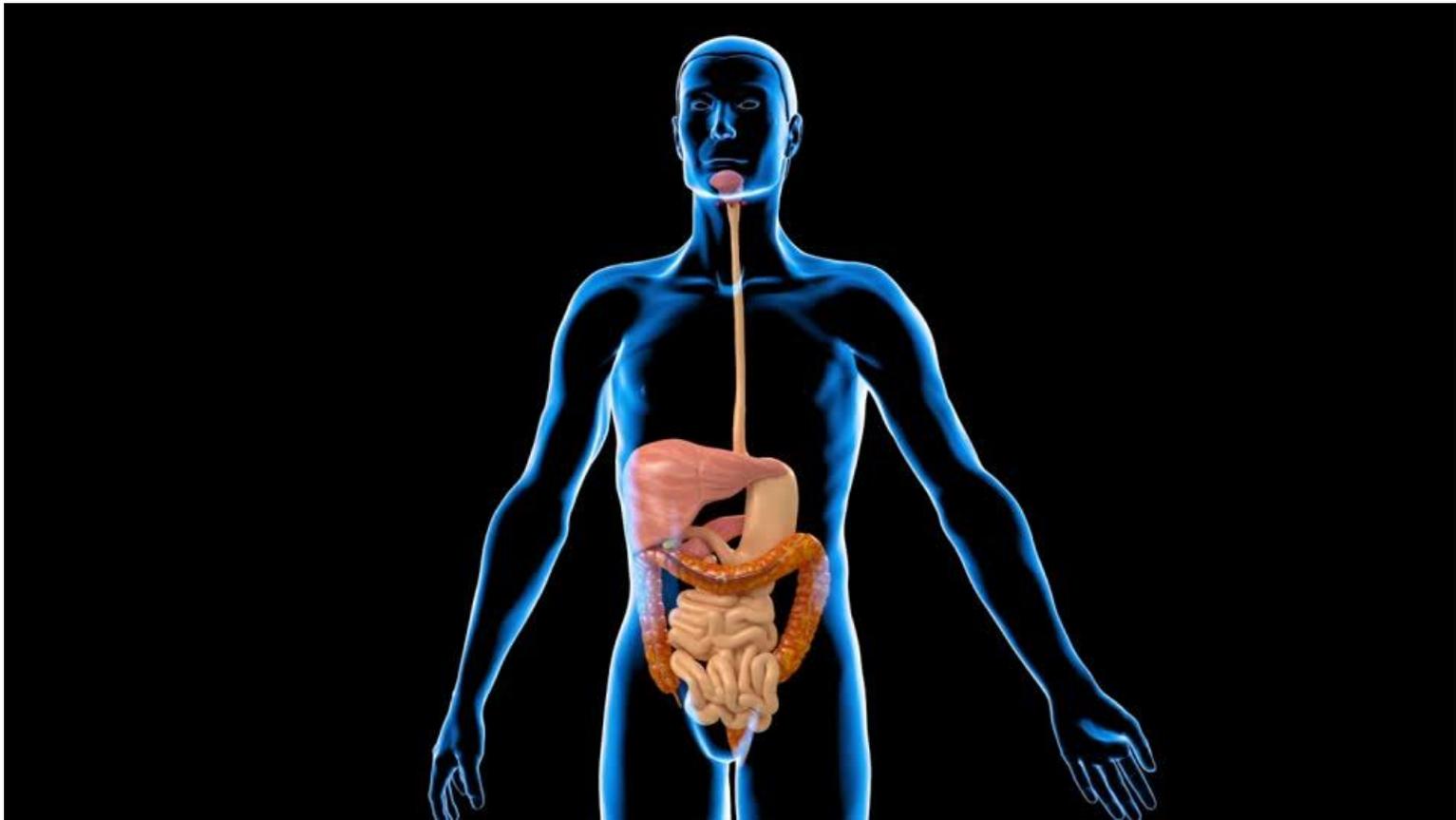
Contemplar variabilidad preanalítica del Hierro (28,6%)

Ceruloplasmina



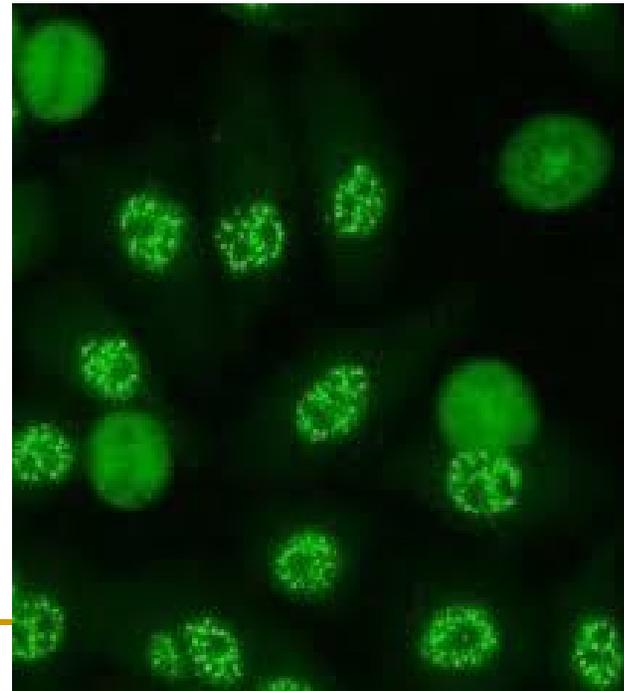
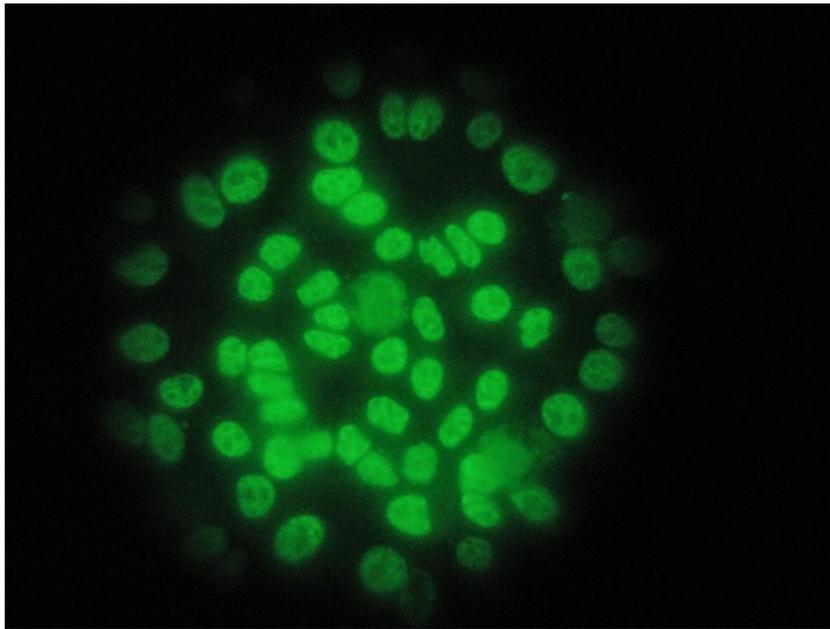
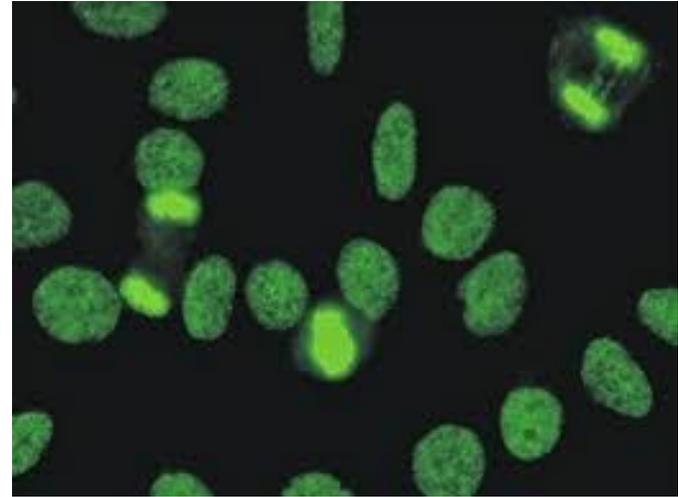
- Es una α_2 glucoproteína sérica que contiene más del 95% del cobre presente en la sangre.
- Su función parece involucrada en el transporte del cobre (cobre multioxidasa), en el metabolismo del hierro (ferroxidasa), y también tiene funciones antioxidantes.
- En el plasma la Cp, por su actividad ferroxidasa, transforma el hierro ferroso (Fe^{2+}) en hierro férrico (Fe^{3+}), facilita su incorporación a la transferrina (Tf) y ocasiona un gradiente negativo que acelera la liberación del hierro celular.
- Valores bajos de Ceruloplasmina se correlacionan con Enfermedad de Wilson
- Muestra: suero

Hepatopatías



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

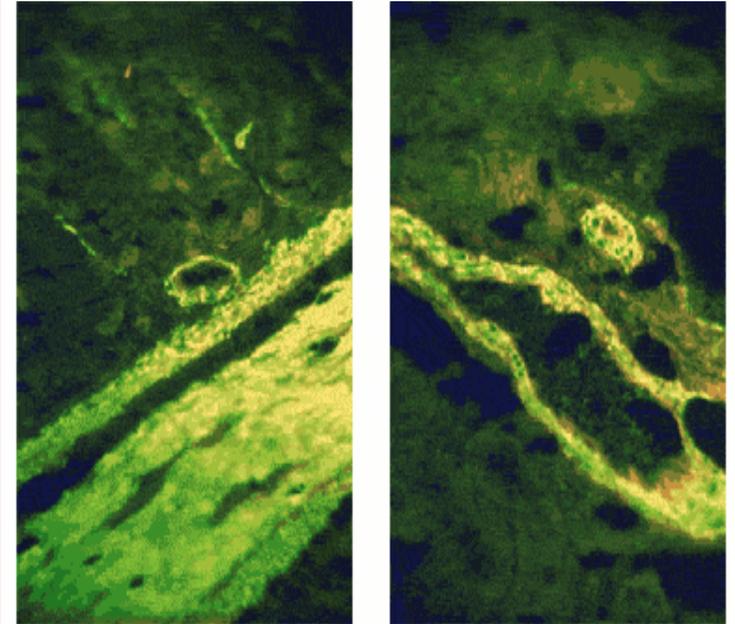
AML

Este AC está dirigido contra la forma polimerizada de la actina (formando microfilamentos), la actina F.

En la IFI se observa una fluorescencia brillante color verde manzana que se dispone en las fibras de la musculatura lisa estómago y tejido renal de rata, y en los vasos sanguíneos del estómago.

También puede observarse en los glomérulos del riñón y las fibras interglandulares del estómago.

Con alta frecuencia es posible encontrar además ANA, los cuales se pueden observar en ambos cortes de tejido.

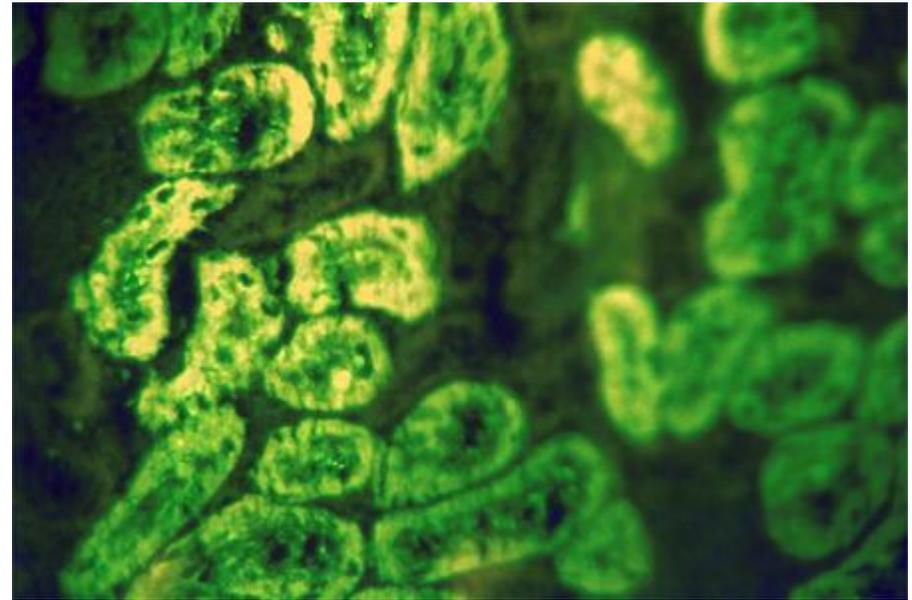
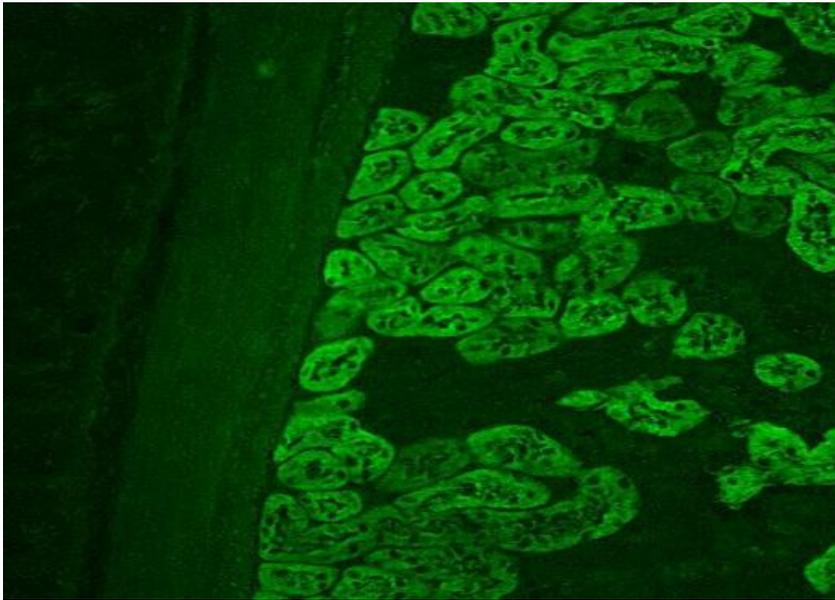


En hepatitis autoinmune tipo 1 se encuentra positivo en el 35% de los pacientes, y cuando además se presenta con ANA (+) la sensibilidad aumenta al 60%.

Es posible encontrar estos AC en otras enfermedades hepáticas autoinmunes: cirrosis biliar primaria, como también en enfermedades hepáticas no autoinmunes como la hepatitis crónica por virus B, C y D, en la falla hepática aguda, hepatitis inducida por drogas, esteatohepatitis no alcohólica, enfermedad hepática por alcohol y carcinoma hepatocelular.

Los resultados hay que evaluarlos siempre en conjunto con la historia clínica del paciente.

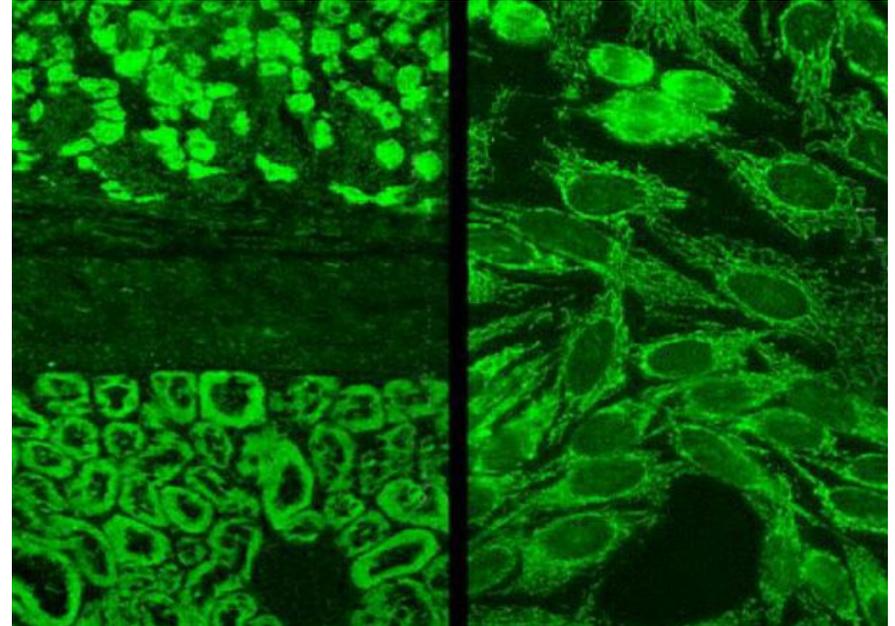
LKM



- Autoanticuerpos séricos anti microsomas de hígado/riñón tipo (LKM). El antígeno blanco de los LKM es la Citocromo P450 Monooxigenasa (P450IID6), enzima microsómica de 50 kDa que metaboliza fármacos.
- El método más frecuente para determinar anticuerpos anti LKM es la inmunofluorescencia indirecta, utilizando cortes de hígado y riñón de rata. El principal inconveniente es el patrón similar que presentan otros autoanticuerpos denominados Antimitocondriales (AMA)

Acs a Mitocondriales

El Ac anti-mitocondrial se encuentra presente en pacientes con cirrosis biliar primaria (CBP). Corresponden a auto-AC dirigidos contra la subunidad E2 del complejo de la enzima 2-oxo-deshidrogenasa ácida, la cual se localiza en la superficie interna de la membrana interna de la mitocondria.



En la IFI se observa una fluorescencia citoplasmática brillante en los túbulos renales, que frecuentemente puede estar acompañada de fluorescencia en los túbulos distales que son ricos en mitocondrias, así como también en las células parietales gástricas (ricas en mitocondrias).

En los pacientes con CBP se encuentran positivos en el 95% de los casos. Es posible encontrarlos también en otras enfermedades hepáticas, como la hepatitis crónica por virus C y en la falla hepática aguda, así como también en enfermedades reumatológicas como la esclerosis sistémica progresiva y el Sd de Sjögren.

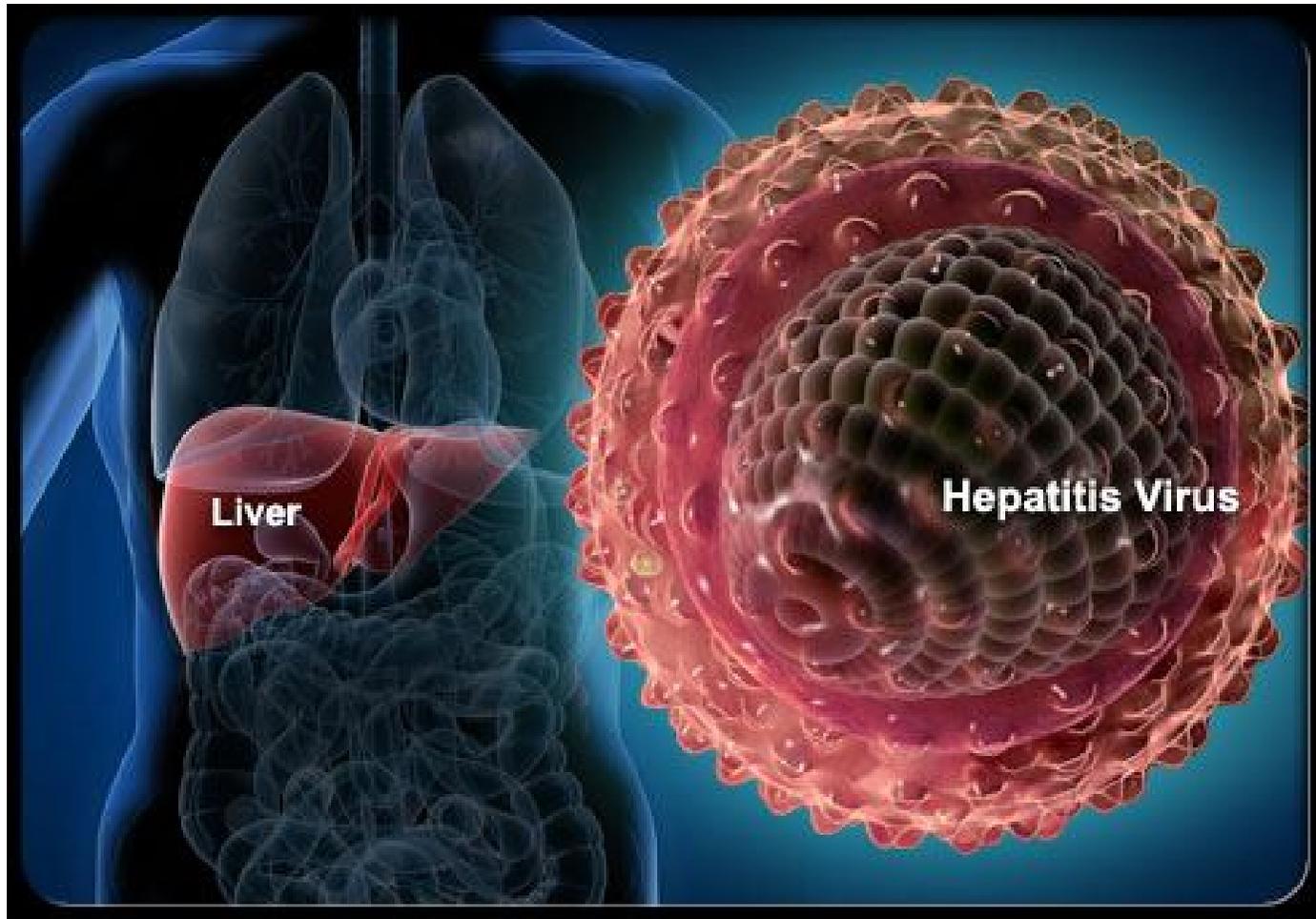
Panel de Autoanticuerpos

- Se determinan los siguientes Anticuerpos:
- - Ac anti: M2
- LKM
- LC1
- SLA
- F-Actina
- GP 210
- SP 100

Método: LIA

Muestra: suero

Hepatitis Virales

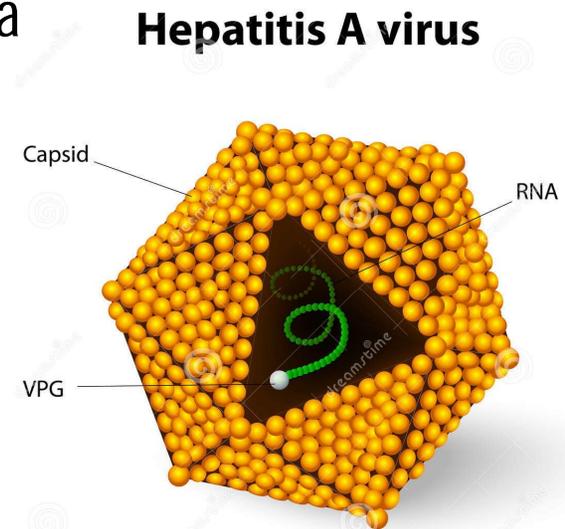


Virus Hepatitis A

Características Clínicas

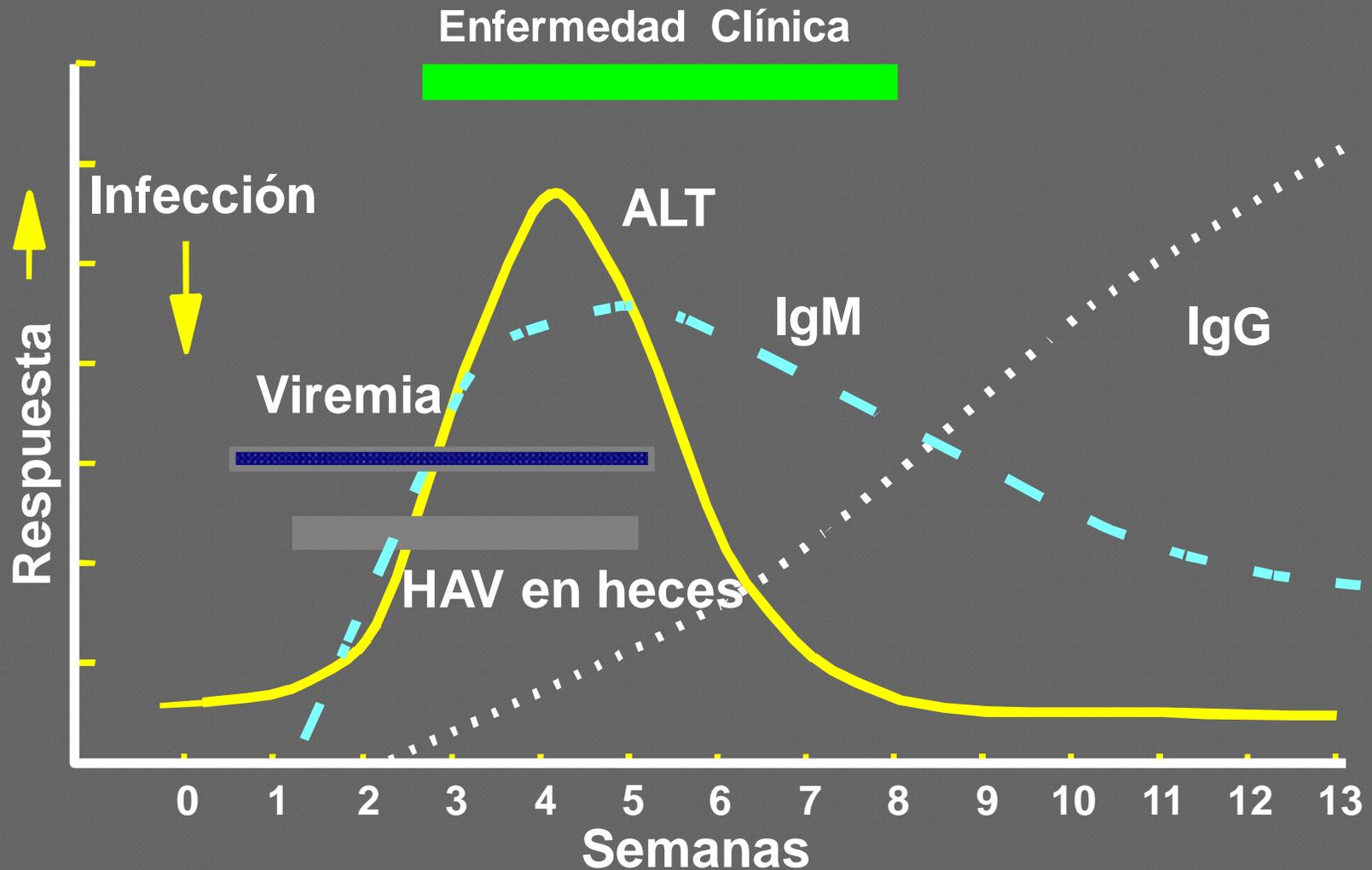
- Ictericia por grupo edad:

<6 años	<10%
6-14	40%-50%
>14	70%-80%
- Complicaciones raras: Hepatitis Fulminante
Hepatitis Colestática
Hepatitis Bifásica
- Período de Incubación: Promedio 30 días
Rango 15-50 días
- Secuelas Crónicas: Ninguna

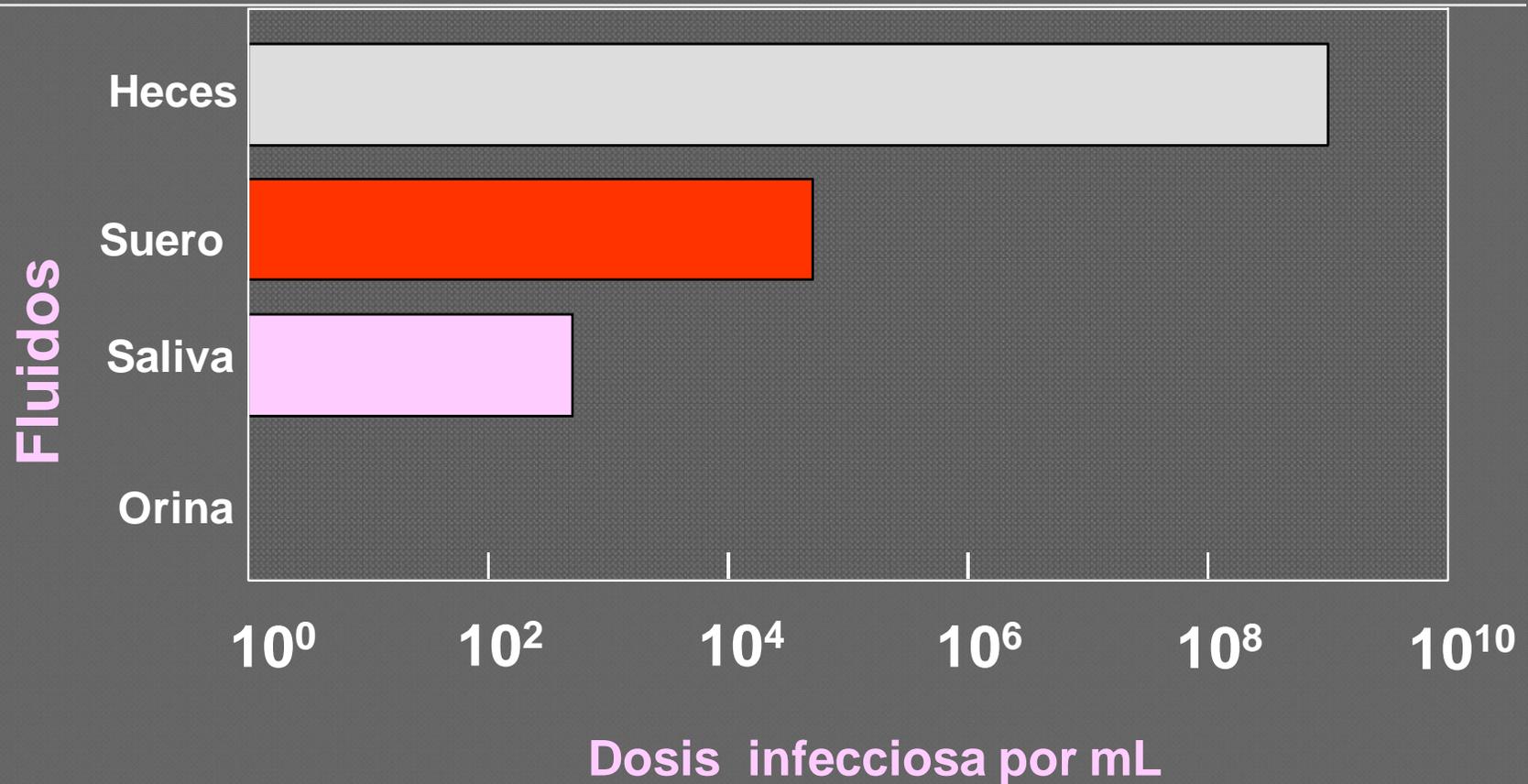


HEPATITIS A VIRUS

Diagnóstico



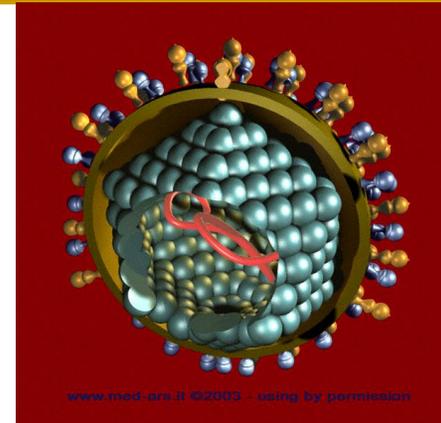
CONCENTRACIÓN DE VIRUS A DE HEPATITIS EN VARIOS FLUIDOS BIOLÓGICOS



Source: Viral Hepatitis and Liver Disease 1984;9-22
J Infect Dis 1989;160:887-890

VIRUS HEPATITIS A

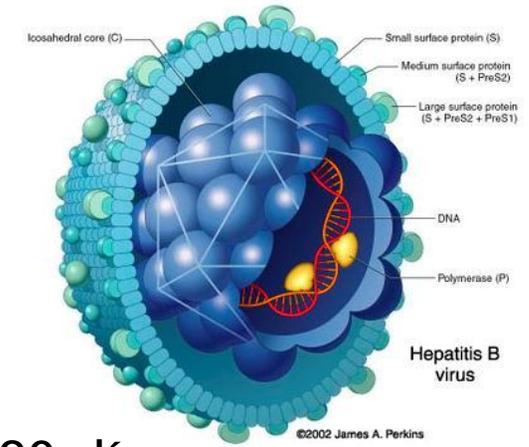
Respuesta Inmune



- En caso de Hepatitis A aguda, el anticuerpo anti-HAV a clase IgM se detecta alrededor de 3 semanas después del contacto con el virus, con un título máximo entre las 4 y 6 semanas. Luego declina a límites no detectables alrededor de los 6 meses post-exposición.
- Los anticuerpos clase IgG perduran varios años a posteriori de la infección, confiriendo inmunidad de por vida.

VIRUS HEPATITIS B

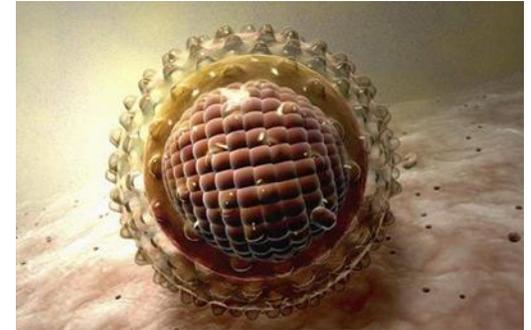
Características Clínicas - Resumen



- Período de incubación: Promedio 60-90 días
Rango 45-180 días
- Enfermedad Clínica: <5 yrs, <10%
(ictericia) >5 yrs, 30%-50%
- Muerte Fulminante Aguda: 0.5% - 1%
- Infección crónica: <5 yrs, 30%-90%
>5 yrs, 2%-10%
- Mortalidad prematura por enfermedad hepática: 15%-25%

VIRUS HEPATITIS B

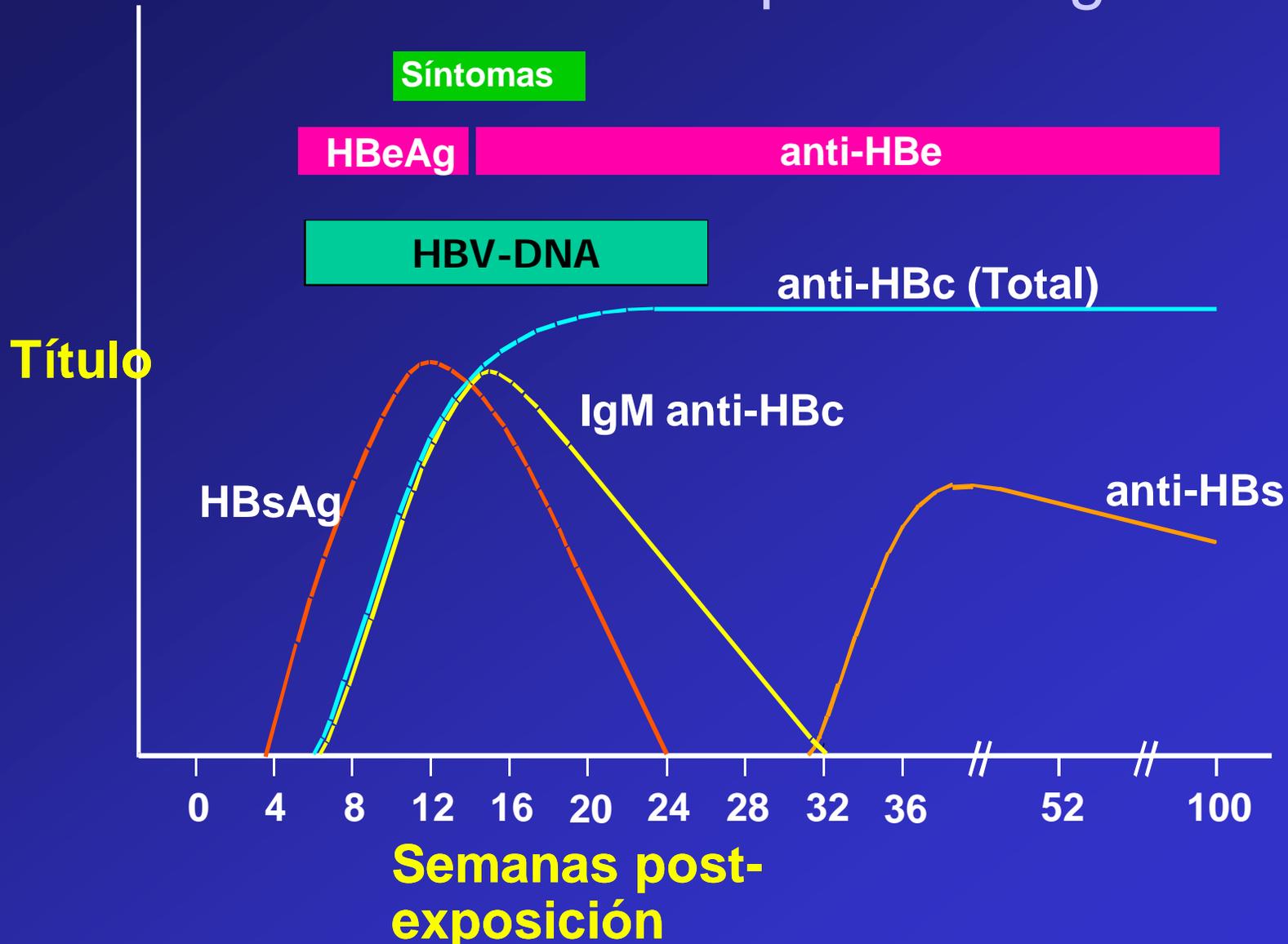
Nomenclatura utilizada



- ✓ **HBsAg: Antígeno de superficie**
- ✓ **Anti-HBs: Anticuerpo anti-supeficie (HBV)**
- ✓ **Anti-HBc (total): Anticuerpo anti-core (HBV) total**
- ✓ **Anti-HBc (IgM): Anticuerpo anti-core (HBV) a clase IgM**
- ✓ **HBeAg: Antígeno e (HBV)**
- ✓ **Anti-HBe: Anticuerpo anti-e**
- ✓ **HBV-DNA: DNA del virus de Hepatitis B**
- ✓ **HBV-DNA cuantitativo: carga viral HBV**
- ✓ **HBV-DNA cualitativo (PCR): resultado de tipo SI/NO de presencia del HBV-DNA**

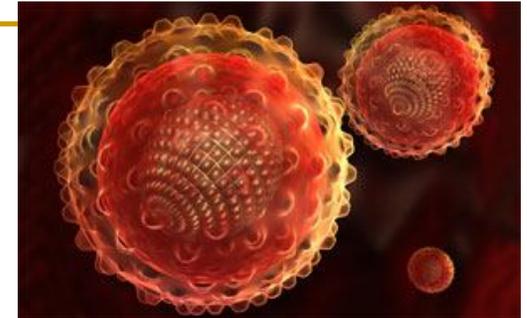
VIRUS HEPATITIS B

Marcadores Virales - Hepatitis B Aguda



VIRUS HEPATITIS B

Marcadores Virales - Diagnóstico



- Diagnóstico de infección por el HBV

Realizar: HBsAg y Anti-HBc (IgG)

Posibilidades

HBsAg (+)

Anti-HBc (total) (+)



Diferenciar Hepatitis
Aguda de Hepatitis
Crónica

2

HBsAg (-)

Anti-HBc (total) (+)



Ver si existe
infección residual

1

HBsAg (-)

Anti-HBc (total) (-)



No existió contacto
con el HBV

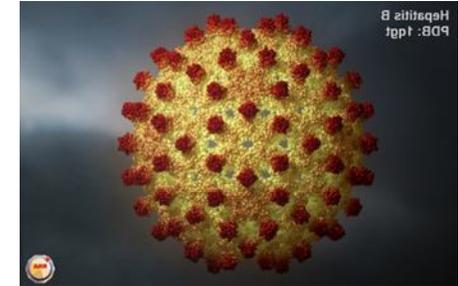


VACUNACIÓN₂₂

VIRUS HEPATITIS B

Marcadores Virales - Anti-HBc (total) (+) aislado

- 1- HBsAg (-), Anti-HBc (+)



A) Realizar Anti-HBs: si Anti-HBs(+) implica infección pasada resuelta, paciente inmunizado.

B) Si Anti-HBs (-), existen 3 posibilidades: a) infección muy lejana con pérdida del Anti-HBs b) paciente con replicación residual de HBV, con HBsAg (-) c) falso positivo metodológico

En este caso: hacer 1 dosis de vacuna y medir al mes Anti-HBs:

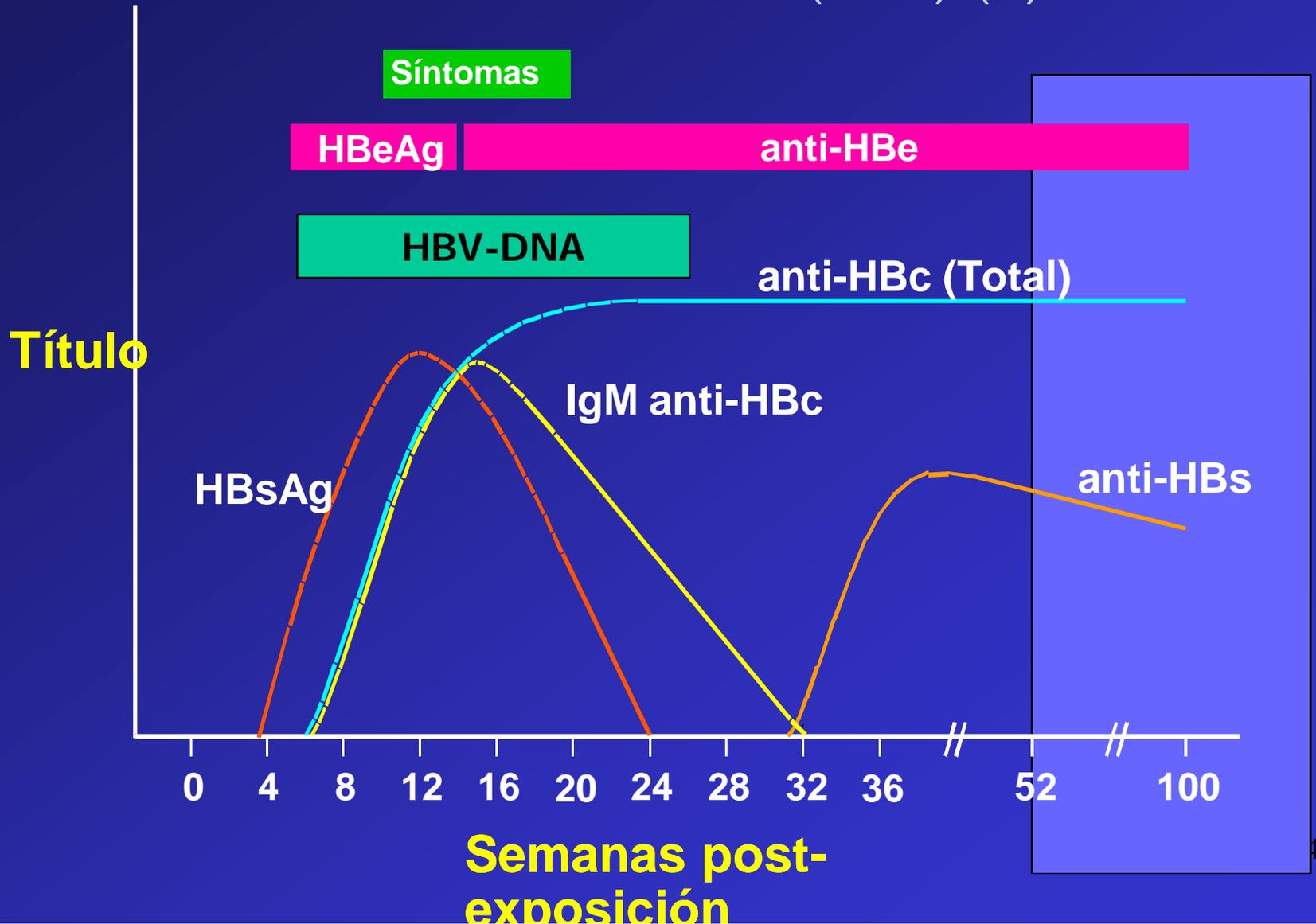
Si Anti-HBs (+) con alto título: implica a)

Si Anti-HBs (+) con bajo título implica c), seguir plan de vacunación.

Si Anti-HBs (-), implica situación b), ver replicación residual por PCR.

VIRUS HEPATITIS B

Marcadores Virales - Anti-HBc (total) (+) aislado



VIRUS HEPATITIS B

Marcadores Virales - Diagnóstico diferencial Hepatitis Crónica

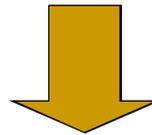
HBsAg (+), Anti-HBc (IgG) (+)

Diferenciar Hepatitis B Aguda de Crónica:

Utilizar: Anti-HBc (IgM)

Si Anti-HBc (IgM): (+) INFECCIÓN AGUDA

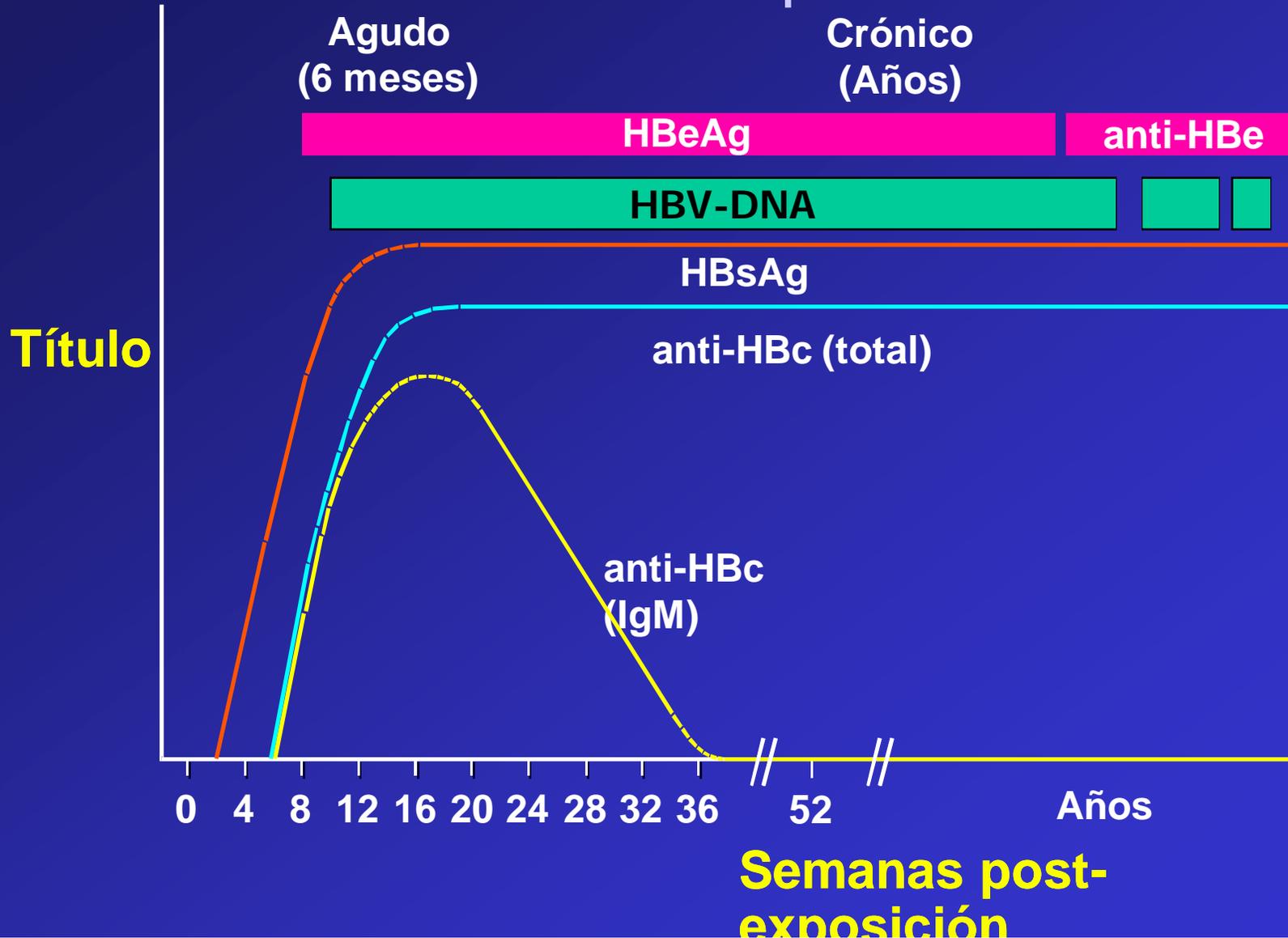
Si Anti-HBc (IgM): (-) INFECCIÓN CRÓNICA



**DEFINIR FASE DE REPLICACIÓN VIRAL Y
ESTADIO DE LA INFECCION CRÓNICA**

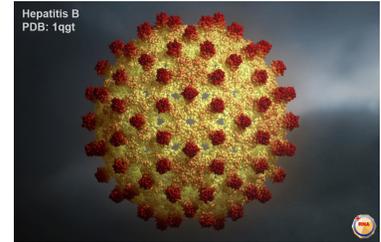
VIRUS HEPATITIS B

Marcadores Virales - Hepatitis B Crónica



VIRUS HEPATITIS B

Características Clínicas Hepatitis B crónica



- A pesar de que la mayoría de los adultos se recupera completamente de la infección por el HBV, en un 5 a 10% de los pacientes infectados la replicación viral persiste.
- Este porcentaje es mucho mayor en niños, donde entre un 70 al 90% de los infectados en los primeros años de vida desarrolla un estado de portador crónico del HBV.
- Existen 350 millones de personas con portación crónica del HBV de los cuales 100 millones se encuentran en China. De los portadores crónicos del HBV, entre el 70 y 80 % son portadores inactivos, mientras que un 20% de los mismos tienen Hepatitis Crónica B Activa.
- La Hepatitis Crónica B es una enfermedad seria que contribuye a la propagación mundial de la infección por HBV.

VIRUS HEPATITIS B

Marcadores Virales - Diagnóstico diferencial Hepatitis Crónica

HBsAg (+), Anti-HBc (IgG) (+)

Diferenciar Hepatitis B Aguda de Crónica:

Utilizar: Anti-HBc (IgM)

Si Anti-HBc (IgM): (+) INFECCIÓN AGUDA

Si Anti-HBc (IgM): (-) INFECCIÓN CRÓNICA



DEFINIR FASE DE REPLICACIÓN VIRAL Y ESTADIO DE LA INFECCIÓN CRÓNICA

¿Qué marcadores usar para caracterizar una Hepatitis B crónica?

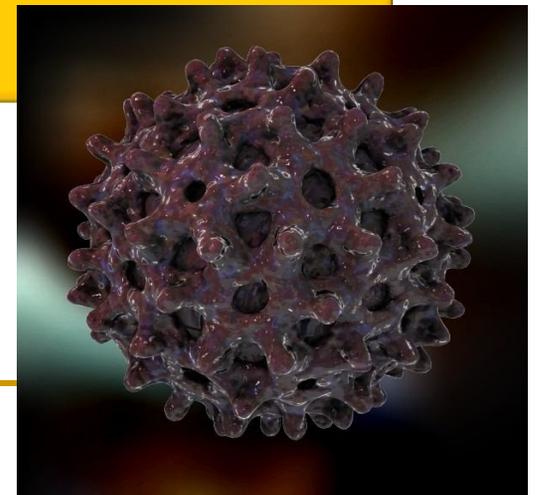
Utilizar los siguientes marcadores:

HBeAg

Anti HBeAg

HBV-DNA cualitativo

HBV-DNA cuantitativo



Marcadores de HBV y su aplicación

HBV

Aplicación

Anti-HBs

Inmunidad

Anti-HBcore

Exposición

HBsAg

HBV-DNA

Infección

HBeAg

HBV-DNA

Replicación

IgM-Anti-HBcore

HBV-DNA

Infección aguda - Enfermedad

Herramientas moleculares en HBV

- Detección del HBV-DNA
 - Cualitativo
 - Cuantitativo – Carga Viral
- Seguimiento del tratamiento
- Detección de mutaciones de resistencia al tratamiento con antivirales
- Determinación del Genotipo de HBV



Detección del HBV-DNA en suero

- Métodos cualitativos: HBV-DNA PCR
 - Resultado de tipo SI-NO
- Métodos cuantitativos: Carga Viral de HBV
 - Resultado numérico expresado en UI/ml



Detección de HBV-DNA cualitativo

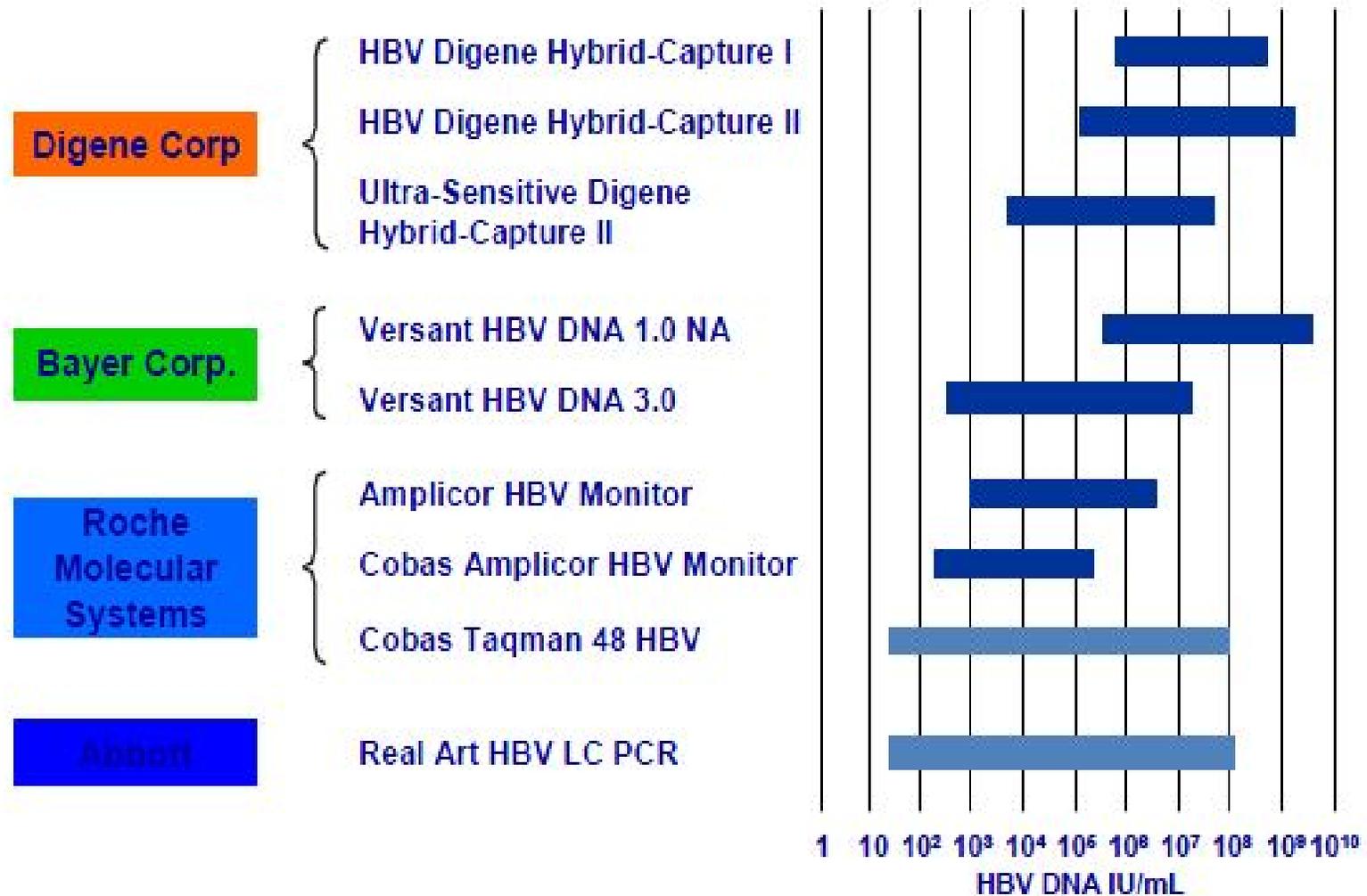
- Aplicaciones:
 - Definición de replicación activa del HBV en pacientes con patrón compatible con infección crónica
 - Definición de infección HBV oculta (HBsAg negativa)
 - Monitoreo de respuesta de tratamiento antiviral
 - Métodos: comerciales, no comerciales
 - Límites de detección: 5 - 50 copias/ml (contra que standards? Como se compara entre laboratorios?)
 - Aplicación principal: TAN en bancos de sangre, métodos específicos para este objetivo diagnóstico
-

Detección de HBV-DNA cuantitativo Carga Viral

- Permite detectar y cuantificar la viremia
- Sólo se utilizan métodos comerciales
- Rangos Heterogéneos de cuantificación de los ensayos:
 - Obliga a diluir valores altos
 - Sólo permite utilizar los de mayor sensibilidad en monitoreo de tratamiento.
- Estandarización de las unidades de cuantificación del HBV DNA en UI/ml
- **La alta sensibilidad de métodos como Taqman permiten usarlo como test cualitativos (Sensibilidad analítica de 6 UI/ml)**



Rangos Dinámicos de los ensayos de carga viral de HBV

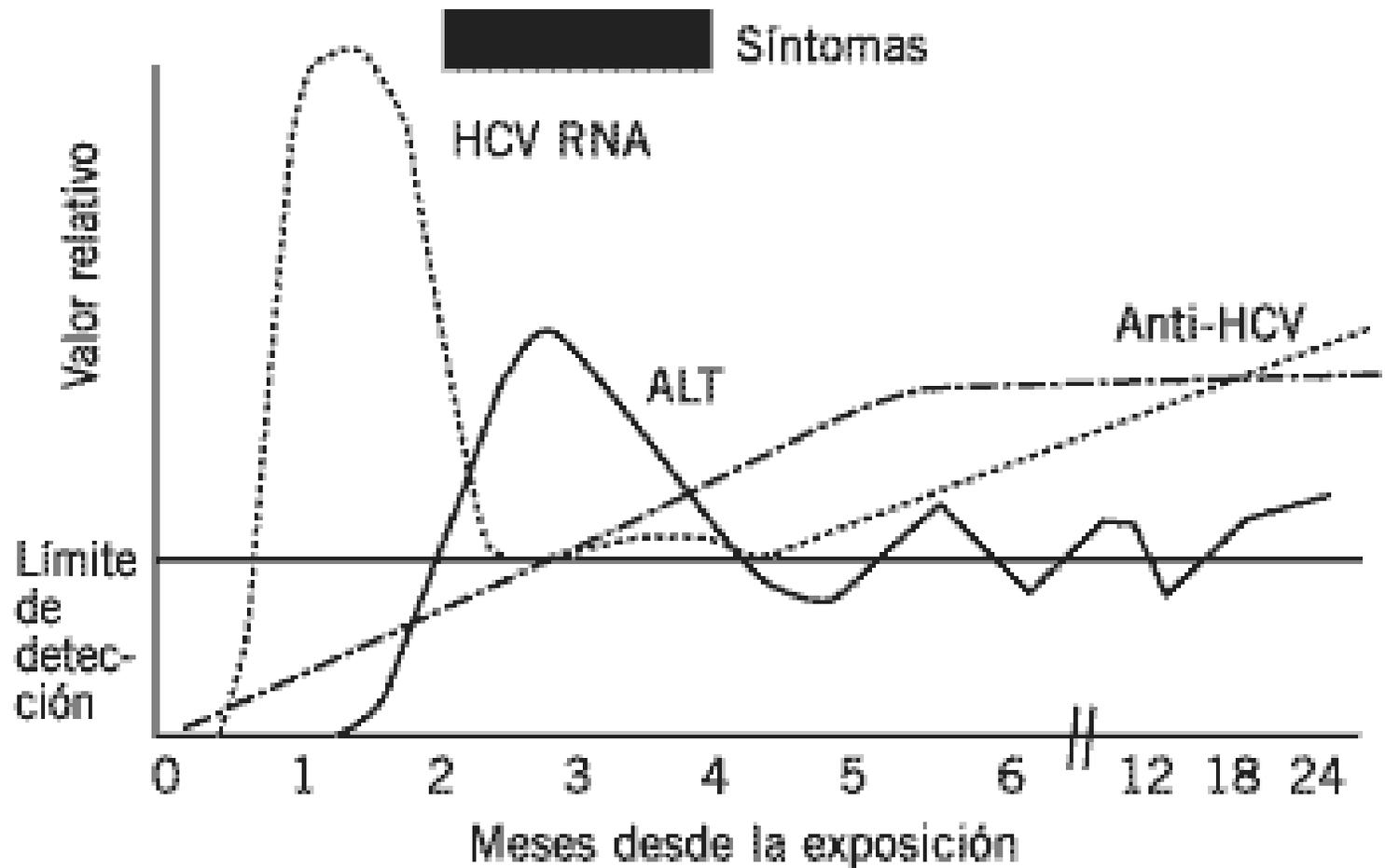


Aspectos importantes a tener en cuenta en métodos cuantitativos

- Siempre usar el mismo método cuando se maneja a un mismo paciente.
- Nunca informar valores mayores a un límite, sino realizar diluciones hasta obtener el valor real.
- Si bien los ensayos se informan en UI/ml, la curva del ensayo es lineal en log/log \Rightarrow informar también resultados en logs.
- Las variaciones clínicamente significativas se consideran en logs de las UI.



Hepatitis C



Detección de infección por HCV

Ac a-HCV: denota el contacto con el virus pero no indica si es reciente

LA INFECCION ACTIVA DEBE CONFIRMARSE CON LA BÚSQUEDA DEL ARN VIRAL



RIBA O LIA

Deteción de infección por HCV

Deteción de ARN Viral

- Recomendación: Usar Técnicas comerciales con límite de detección menor a 50 UI/ ml.
- COBAS Ampliprep / COBAS Taqman: LIMITE DE DETECCION DE 15 UI/MI
- Se están discontinuando las técnicas de PCR cualitativas.

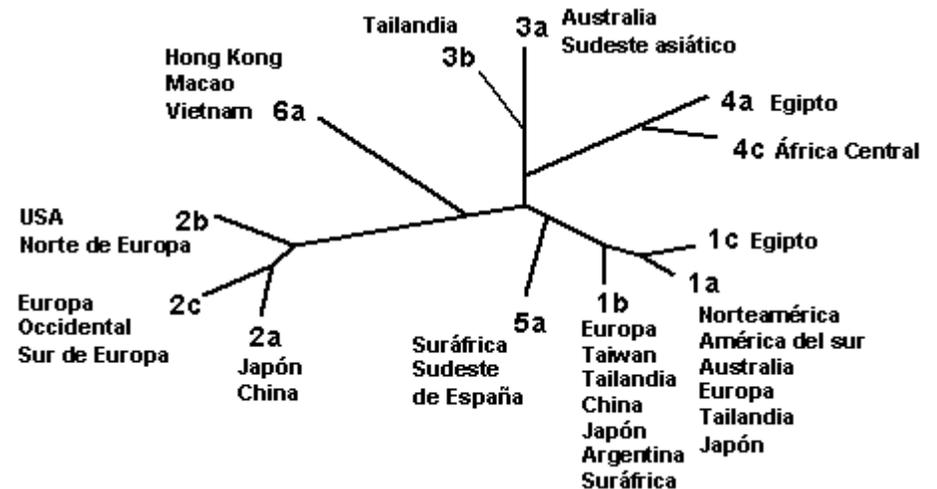
Casos particulares

- ARN VIRAL: Sospecha de infección reciente o aguda. No se detectan.
- ARN VIRAL: "Pacientes inmunocomprometidos o en diálisis



HCV GENOTIPO

EXISTEN 7 TIPOS Y MÚLTIPLES SUBTIPOS DE HCV
ESTÁN RELACIONADOS CON LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD Y LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO
LOS TRATAMIENTOS VARÍAN SEGÚN EL GENOTIPO



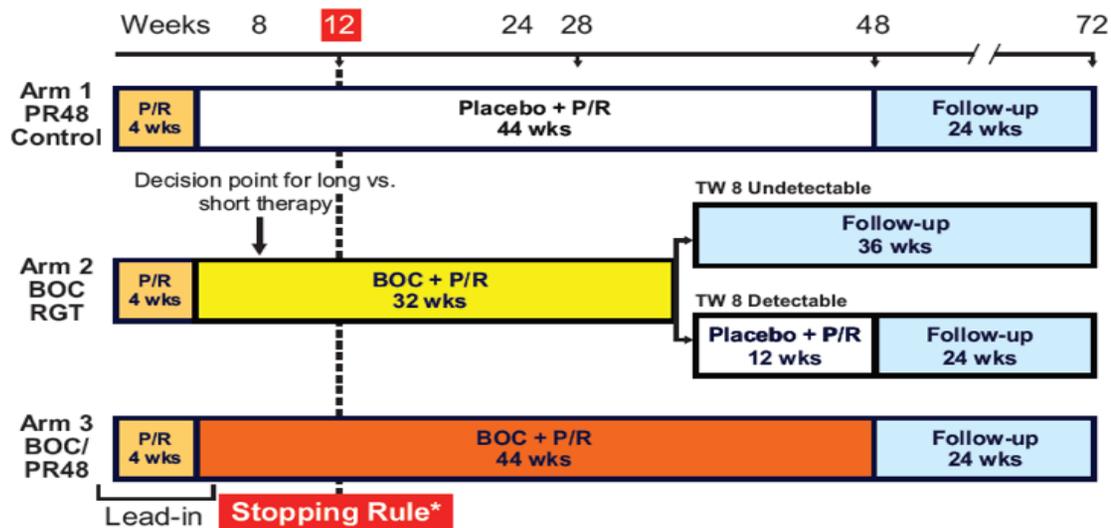
GOLD ESTÁNDAR: SECUENCIACION DE REGIONES ALTAMENTE CONSERVADAS AUNQUE DIFERENTES ENTRE GENOTIPOS

(SECUENCIACIÓN Y ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO, MAS COMPARACIÓN CON BASE DE DATOS INTERNACIONAL)

HCV Monitoreo Tratamiento

Futility Rules for Patients Receiving Telaprevir and Peginterferon plus Ribavirin	
Stopping Criteria*	Regimen and Treatment Duration (weeks)
	0 4 12 24
Week 4 HCV RNA > 1000 IU	Telaprevir PR 
Week 12 HCV RNA > 1000 IU	Telaprevir PR 
Week 24 Detectable HCV RNA	Telaprevir PR 

RESPOND-2 Previous Treatment Failure Patients Study Design

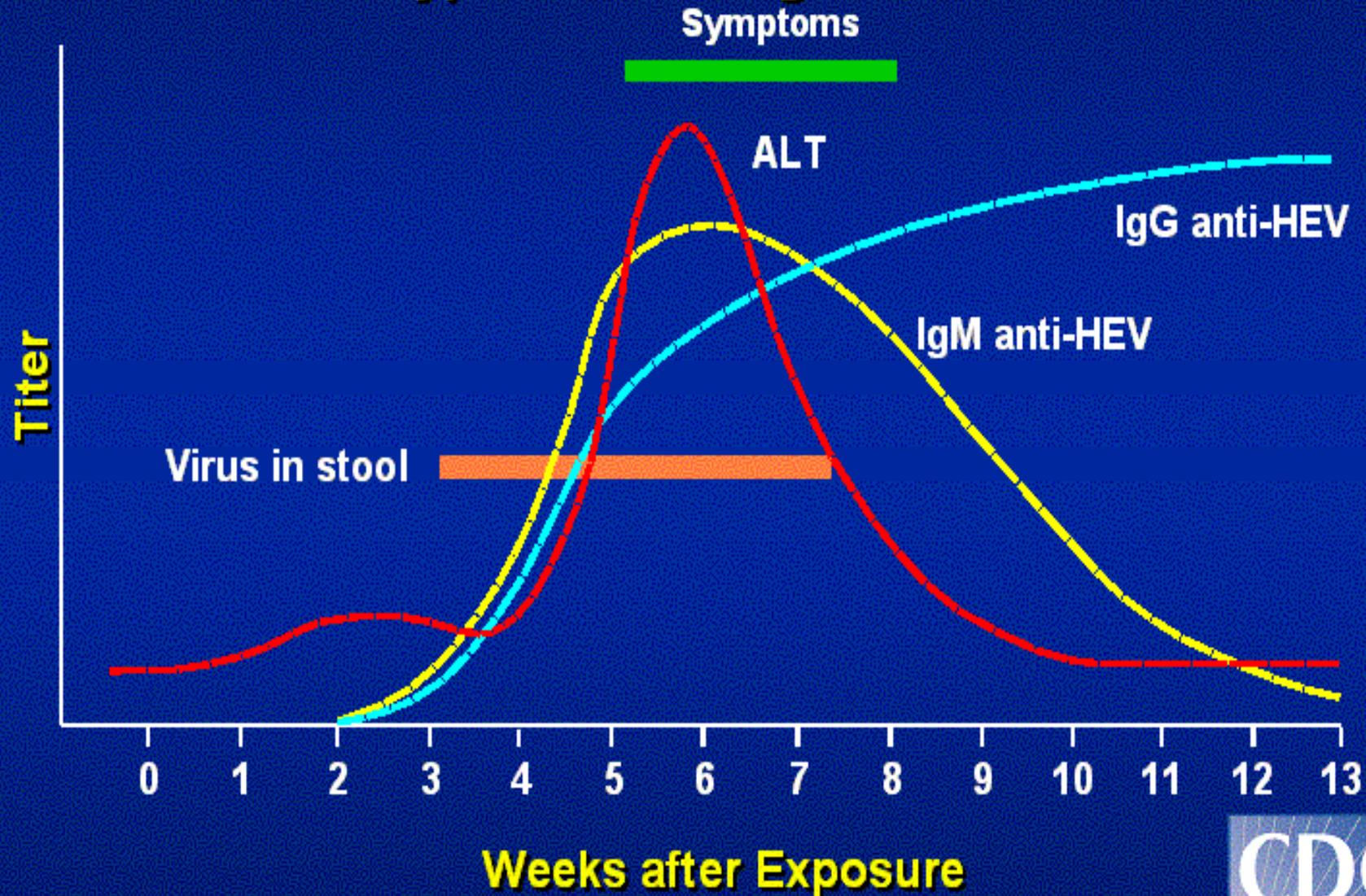


A MODO DE EJEMPLO:

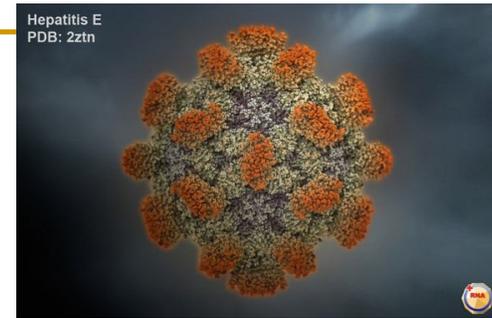
- Terapias de corta duración
- Respuestas rápidas
- Algunas guiadas por la respuesta
- Reglas de discontinuación
- Evaluación de adherencia

Hepatitis E Virus Infection

Typical Serologic Course



Hepatitis E



La hepatitis E es más grave que la hepatitis A, con tasas de mortalidad del 1 al 2 %, en cambio, la tasa de mortalidad de adultos por la hepatitis A es menor del 0.4%.

La determinación del ARN del VHE (RT-PCR) en suero o heces demostró una alta sensibilidad y especificidad al detectar infecciones agudas por VHE.

Principio del método: RT-nested PCR

Tipo de Muestra: Plasma c/EDTA - Suero

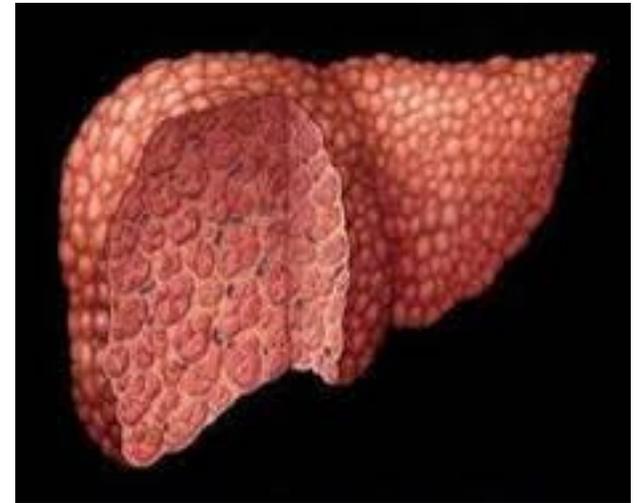
Transporte de la muestra: La sangre entera debe transportarse a 2-25 °C y procesada dentro de las 6 hs de recolección. El suero o plasma puede transportarse a 2-8 °C o congelado a -70 °C.

Conservación de la muestra: Las muestras de suero o plasma pueden conservarse a 2-8 °C hasta 72 hs o congeladas a -70 °C.

¿ Qué son Fibrotest y Actitest?

Son ensayos que permiten la evaluación de:

- Fibrosis hepática
- Actividad necro inflamatoria.



Se consideran una alternativa a la biopsia hepática en pacientes con patologías hepáticas crónicas.

- Combinan seis marcadores séricos con la edad y el sexo del paciente.

Adv Clin Chem. 2008;46:131-60. Review.

Gastroenterol Clin Biol. 2008;32:22-39.

BMC Gastroenterol. 2007;7:40.

¿Qué Pruebas lo componen?

GPT

Alfa2-Macroglobulina

Haptoglobina

Bilirubina total

Apolipoproteina A1

GGT

Los métodos utilizados para el dosaje de estos analitos deben estar estandarizados respecto a los métodos de referencia definidos por la IFCC.

Aplicabilidad de FibroTest: 95-99%

Gastroenterol Clin Biol 2008;32:22-38

¿Cuáles son sus aplicaciones?

Ha sido validado para las siguientes enfermedades :

Hepatitis C crónica

Hepatitis B crónica

Hepatitis B o C crónica con coinfección de HIV

Enfermedad Hepática Alcohólica (esteatosis y esteatohepatitis)

Esteatosis y Esteatohepatitis no alcohólica

Aplica también a las siguientes poblaciones :

Pacientes con insuficiencia renal o con transplante renal

Individuos mayores de 65 años

Pacientes con enfermedad inflamatoria crónica

Hemofílicos

Niños

Población abierta

Hepatitis aguda
(viral A, B, C, D,
E; inducida por
drogas)

Colestasis
extrahepática
(cáncer
pancreático,
cálculos biliares)

Hemólisis
severa (ciertas
válvulas
cardiacas)

Síndrome de *Gilbert*
(fuerte hiper
bilirrubinemia no
conjugada)

¿Cuándo
No puede
aplicarse?

Clin Chem. 2007;53:1615-1622

Gastroenterol Clin Biol 2008;32:22-38

Gastroenterol Clin Biol 2008;32:8-21

■ Conclusiones:

- FibroScan es un método simple y efectivo para evaluar la fibrosis hepática, con un desempeño similar al de Fibrotest y APRI.
- El uso combinado de Fibroscan y Fibrotest para la evaluación de la Fibrosis hepática podría evitar el uso de la Biopsia Hepática en los pacientes con Hepatitis C Crónica.

Gastroenterol 2005. 128:343-350.



- FibroTest (FT) es un biomarcador de fibrosis hepática validado inicialmente en pacientes con Hepatitis C crónica, y luego evaluado en otras patologías hepáticas comunes como Hepatitis B crónica, Enfermedad hepática alcohólica, e Hígado graso no Alcohólico.
- FT tiene un valor pronóstico similar al de la Biopsia en pacientes con las patologías mencionadas por lo cual es una alternativa no invasiva.

Gastroenterol Clin Biol 2008;32:22-38.

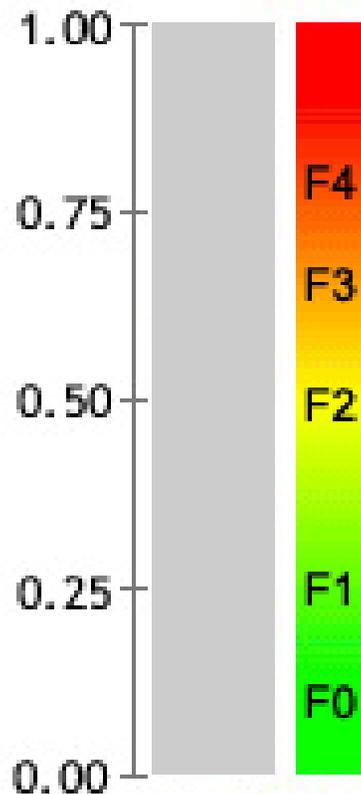
Fibrotest

- VPP: 73%
- VPN: 90%

Did Dis Sci (2010) 55: 560 - 578

¿Cómo se expresan los resultados?

Fibrotest



Interpretación

La escala METAVIR evalúa la fibrosis en hepatitis crónica de acuerdo a una clasificación de 5 estadios:

- F0 : sin fibrosis
- F1 : fibrosis portal y periportal sin septos
- F2 : fibrosis portal y periportal con mínimos septos
- F3 : fibrosis portal y periportal con muchos septos
- F4 : cirrosis



Gastroenterología

Calprotectina

El test de Calprotectina en Materia Fecal es una herramienta para investigar los malestares abdominales, en aquellos casos en que los síntomas y los exámenes clínicos hacen difícil determinar si la condición es orgánica o funcional.

La proteína es producida fundamentalmente por los neutrófilos. Una vez que éstos son producidos en la médula ósea, pasan varios días en los tejidos, terminando sus días en el tracto gastrointestinal, donde liberan una serie de sustancias (entre ellas la calprotectina). Se asume que esta proteína tiene una función biológica importante en la regulación de la microbiota intestinal.

- Sensibilidad entre el 89 y 98%
- Especificidad del 81 y 91%

en la discriminación entre la Enfermedad inflamatoria intestinal y una condición funcional.



- La calprotectina en Materia Fecal es un criterio objetivo de actividad inflamatoria en la Enfermedad intestinal,
- Es útil para la evaluación y seguimiento de la enfermedad y su tratamiento.
- El uso de este marcador puede contribuir en la reducción del número de colonoscopías innecesarias, lo cual es muy importante en niños.
- Al momento del diagnóstico, los pacientes con Enfermedad inflamatoria intestinal tienen niveles claramente aumentados de calprotectina, mientras que los pacientes con Colon Irritable tienen niveles normales. La normalización de los niveles de calprotectina parece ser un claro indicador de curación de la mucosa intestinal.



Interpretación de resultados

- **Método:** ELISA.
- **Tipo de muestra:** Materia fecal
- **Condiciones del paciente:** deposición espontánea.
- Valores Normales por **debajo de 50 $\mu\text{g/g}$.**
- **Valores entre 50 and 200 $\mu\text{g/g}$** pueden representar una enfermedad orgánica leve con inflamación provocada por AINEs, diverticulitis leve o Enfermedad de Intestino Irritable (IBD) en fase de remisión..
- **Valores mayores a 200 $\mu\text{g/g}$** serían indicativos de enfermedad orgánica activa con inflamación del tracto intestinal



SOMF

Con dieta (Método de Guayaco o de la Bencidina)

- Durante 3 días realizar una DIETA BLANCA, que consiste en consumir leche y sus derivados (quesos, crema, yoghurt), sémolas, arroz blanco, fideos con salsa blanca o con crema, huevos, pescado, pollo).
- No ingerir carnes rojas, verduras ni medicamentos que contengan Hierro.
- No cepillarse con fuerza los dientes para evitar el posible sangrado de encías, que pueden ocasionar resultados falsos. Preferiblemente enjuagarse sin cepillar.
- Al cuarto día recoger una porción pequeña de materia fecal en un recipiente perfectamente limpio.
- No se aconseja recoger en frascos caseros, por la posible contaminación con restos alimenticios o detergentes, que pueden interferir con el análisis.
- Evitar la contaminación con orina

Sin dieta (Método inmunocromatográfico)

- Utiliza anticuerpos policlonales o monoclonales específicos contra la hemoglobina humana
- La muestra se recolecta en un papel de filtro



Clearance Alfa 1 Antitripsina



- La mayoría de las proteínas séricas sufren una completa proteólisis en la luz intestinal con producción de péptidos y aminoácidos que de ese modo son absorbidos, por lo que muy poca proteína intacta se detecta en heces.
- La pérdida entérica de proteínas a la luz intestinal o Enteropatía Perdedora de Proteínas (EPP) constituye una alteración no infrecuente en determinadas enfermedades gastrointestinales y sistémicas.
- Cualquier afección que cause inflamación seria en los intestinos puede llevar a pérdida de proteínas. Algunas de las causas más comunes son infecciones intestinales con parásitos o bacterias, celiacía, Enfermedad de Crohn, Infección por HIV, linfoma, gastroenteropatía alérgica, etc.

Clearance Alfa 1 Antitripsina



- El peso molecular de la A-1-AT (54000 daltons) es similar a la de la albúmina (67000 daltons) por lo que su determinación en heces constituye un fiel marcador del escape de albúmina a la luz intestinal, siendo un excelente marcador de EPP y más aún si se tiene en cuenta que **los alimentos no contienen A-1-AT a excepción de la leche humana**
 - Se determina la concentración de alfa-1-antitripsina en materia fecal y suero, **y se refieren a los gramos de materia fecal en 24 hs**, el cual se obtiene de un promedio después de haber juntado el paciente, las deposiciones de tres días consecutivos.
 - El resultado del clearance de alfa-1 -antitripsina se expresa en gr/ 24hs, siendo su valor normal menor de 16 gr/ 24hs.
-

Grasas en MF

- Cualitativo
 - Tinción Sudan III
 - Útil en esteatorrea franca

 - Van de Kamer (cuantitativo)
 - > 6 g grasa esteatorrea
-

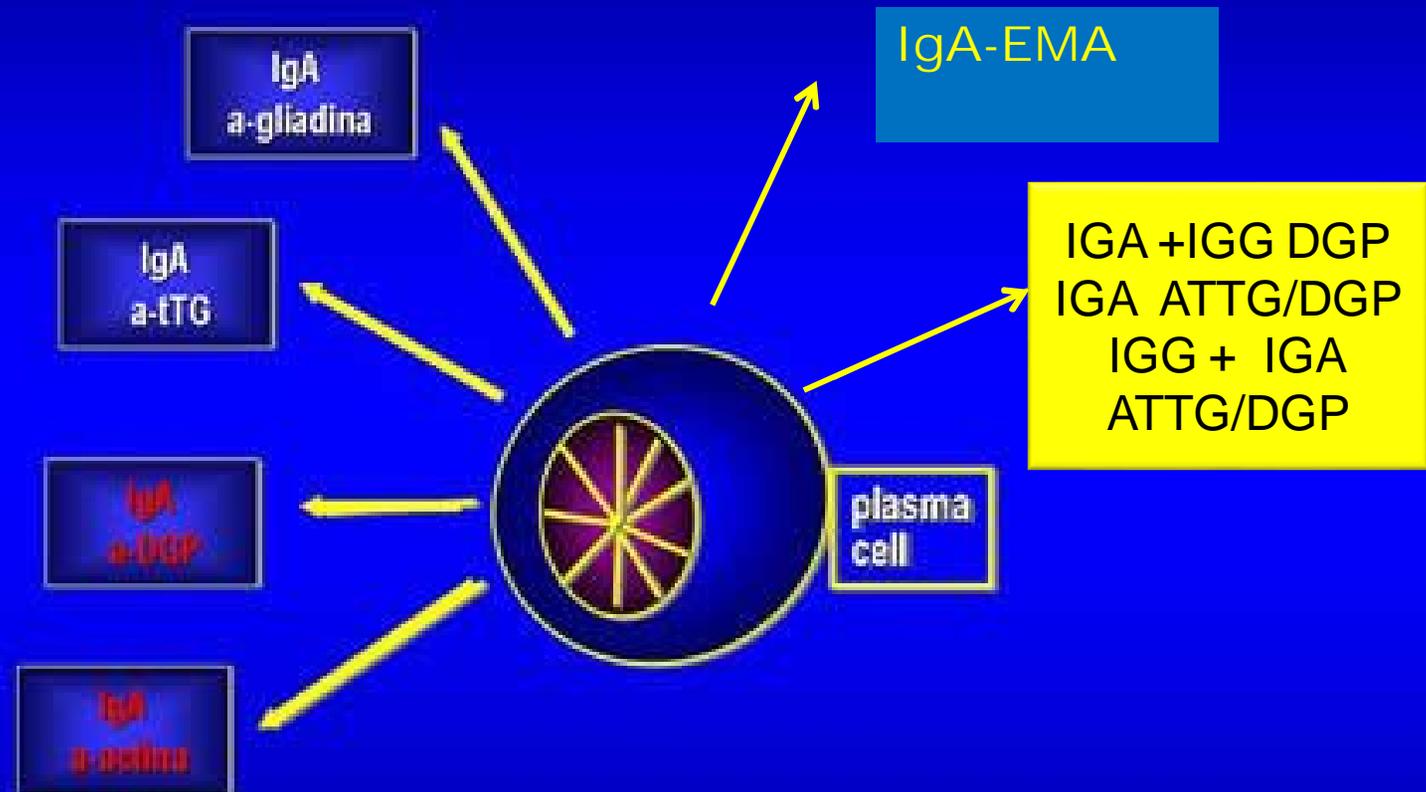
TEST DE VAN DE KAMER:

- Dieta de 80- 100 g/día de lípidos;
- Recolección diaria de materia fecal;
- La eliminación de **más de 6 g/día de grasa por materia fecal** confirma el Síndrome de mala absorción...
- La presencia de **anticuerpos anti-gliadina** y **anti-endomisio** confirman el diagnóstico de enfermedad celíaca...

Enfermedad celíaca



MARCADORES DE ENFERMEDAD CELIACA



¿Cuáles son los marcadores de elección?

CONDICIONES DIETARIAS ANTES DE REALIZAR LA SEROLOGÍA



No realizar serología en niños antes que se haya introducido el gluten a la dieta.

En todo el proceso (realización de serología y biopsia) debe ingerir gluten de lo contrario debe consumirlo por lo menos 3 meses.

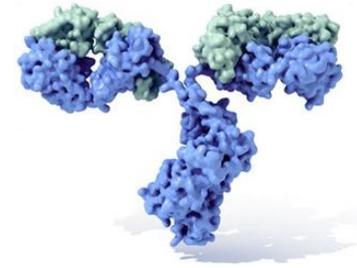
Informar al paciente que si realiza una dieta normal (conteniendo gluten) debe comer algo mas de gluten (ej: pasta, bizcochos, tortas, pan) en más de una comida diaria, todos los días por lo menos 6 semanas antes de realizarse la serología.

EVALUAR LAS CONDICIONES DEL PACIENTE

- ¿Consume Gluten ?
- ¿Está inmunosuprimido?
- ¿Se le midió la IGA sérica ?
- Tiene alguna patología ? (Síndrome de Sjögren, HAI, CBP, EII).



ANTICUERPOS ANTIGLIADINA



- ELISA
 - Los IgG resultan muy sensibles pero inespecíficos (70%) el principal isotipo encontrado en no celíacos
 - Importante tener en cuenta en déficit de IgA
 - Los clase IgA son muy sensibles en menores de 2 años en los cuales a veces es el único marcador
 - S y E :70-80 %
-

-
- Su presencia en sangre indica que el paciente es sensible a la gliadina pero no indica una enteropatía.
 - En la práctica clínica, los falsos negativos son más temidos que la falta de especificidad
 - La concentración en sangre de AGA no está homogéneamente distribuida ya que cambia con la edad y está muy influenciada por factores genéticos
 - No se encontró relación de los AGA con la patogenia de la EC, siendo mas bien reflejo del aumento de la permeabilidad intestinal
 - Se ha comprobado que con grado 4 de atrofia vellositaria y resultados mayores de 100 U/ml la correlación llega al 99%.



FALSOS POSITIVOS

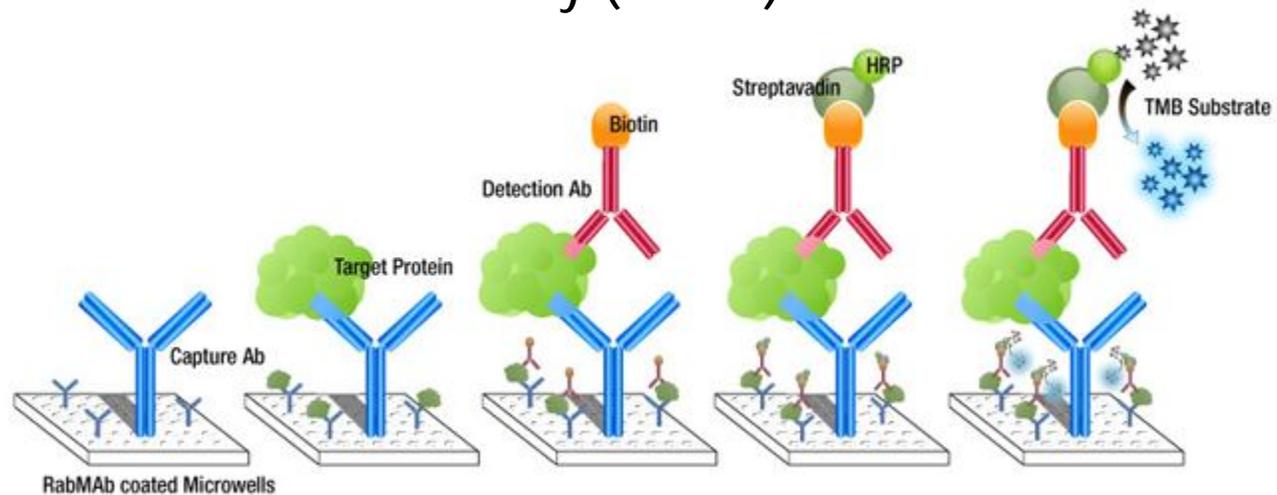
- Giardiasis
- AVPL
- Síndrome post enteritis
- Diarrea
- Enfermedad de Crohn
- Eczema atópico
- S Sjögren
- AR
- Colitis ulcerosa
- Hepatitis crónica
- Pénfigo
- Psoriasis
- Fibrosis quística
- Enfermedad de Berger
- Gastroenteritis reciente
- IGG EN AUTISMO



ANTI-TRANSGLUTAMINASA

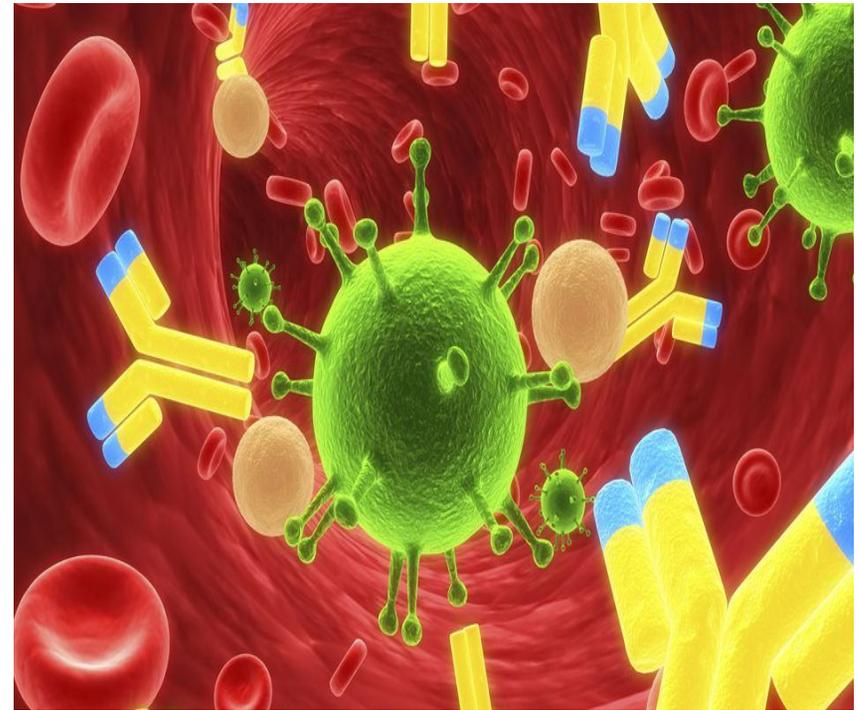
TÉCNICA DE ELISA:

- Primera generación (de extracto de hígado de cobayo)
- Segunda generación (humana recombinante)
- Fluorometric Immunoassay (FEIA)
- Chemiluminescence Immunoassay (CLIA)



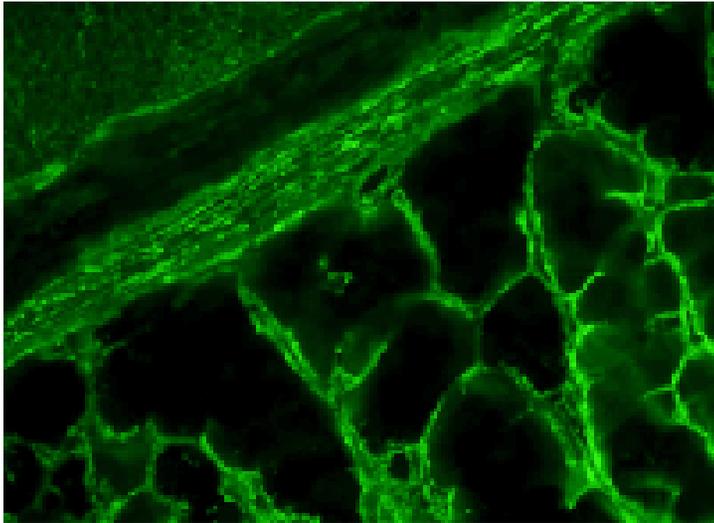
TRANSGLUTAMINASA TISULAR

- Enzima abundante en Fibroblastos, células mononucleares, endoteliales, Músculo Liso (Expresión aumentada en Enterocitos).
- Induce la deaminación de los péptidos de gluten y la formación de nuevos epitopes.
- En el test de Acs a Endomisio es el Ag dominante, pero también hay presentes: Reticulina, F-Actina.
- La concordancia entre EMA y ATGt no es total, pero es muy alta con TG2 humana
- Es menos específica con respecto al EMA por ser una enzima ubicua que se incrementa en otras Enfermedades inflamatorias

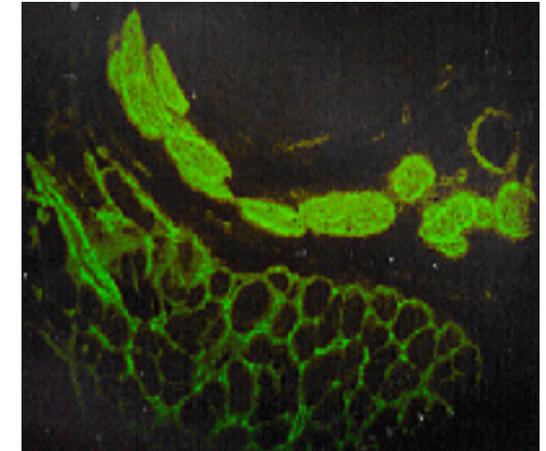
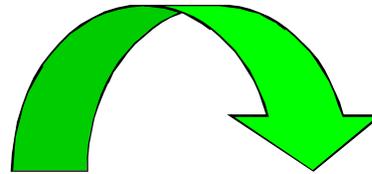


ANTI-TRANSGLUTAMINASA

- Sensibilidad en adultos del recombinante humano es de 95 a 100% , y especificidad del 97% a 100 % según el antígeno utilizado
 - En pediatría esto es mas conflictivo
 - En niños tienden a aparecer más tarde que los AGA (normalmente de 1-2.5 a 5-6 años) y sus niveles fluctúan
 - La performance diagnóstica del test está en relación con el grado de daño histológico así que la sensibilidad disminuye al igual que los EMA
 - Pacientes con lesiones leves la sensibilidad es menor
-



Se dirigen contra la sustancia interfibrilar del músculo liso (endomisio)



Son preferentemente de clase IgA

ANTICUERPOS ANTIENDOMISIO

Falsos negativos (15-30%) en pacientes con lesiones vellositarias leves –moderadas, en adolescentes y lactantes pequeños y en déficit del IgA

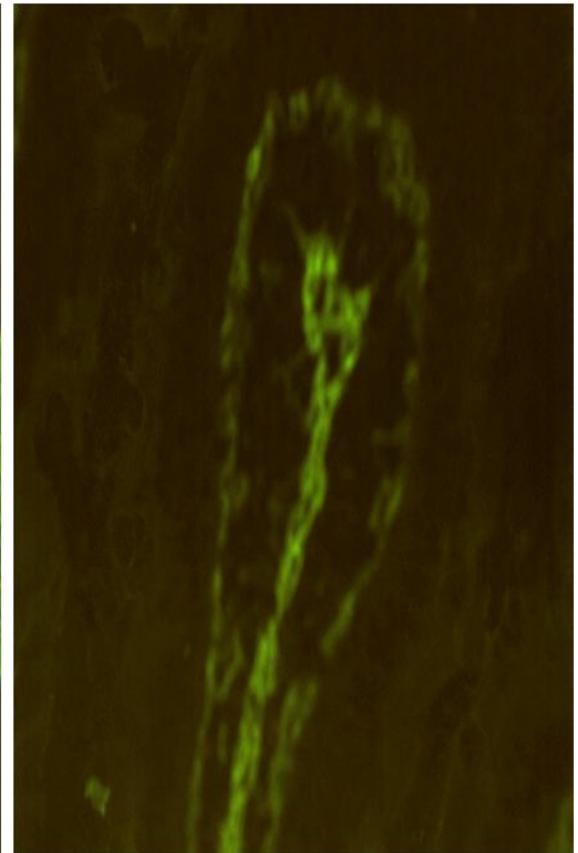
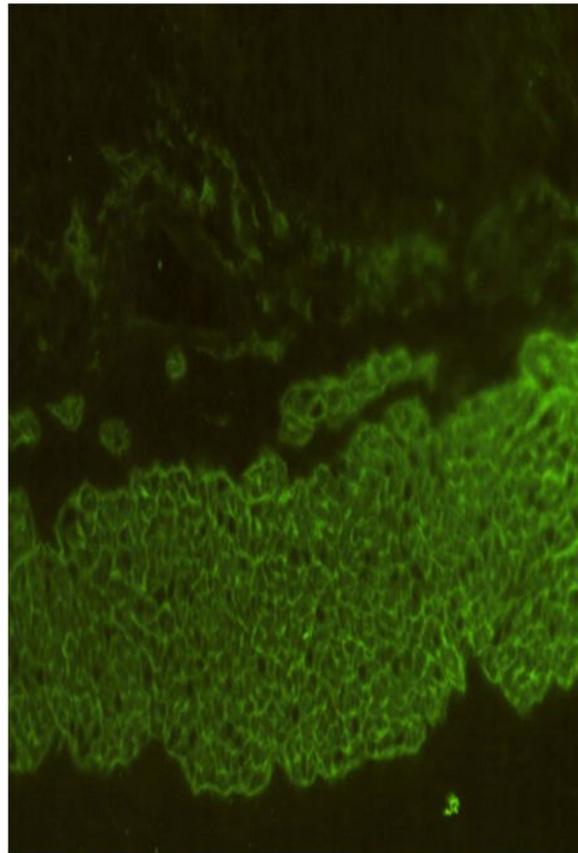
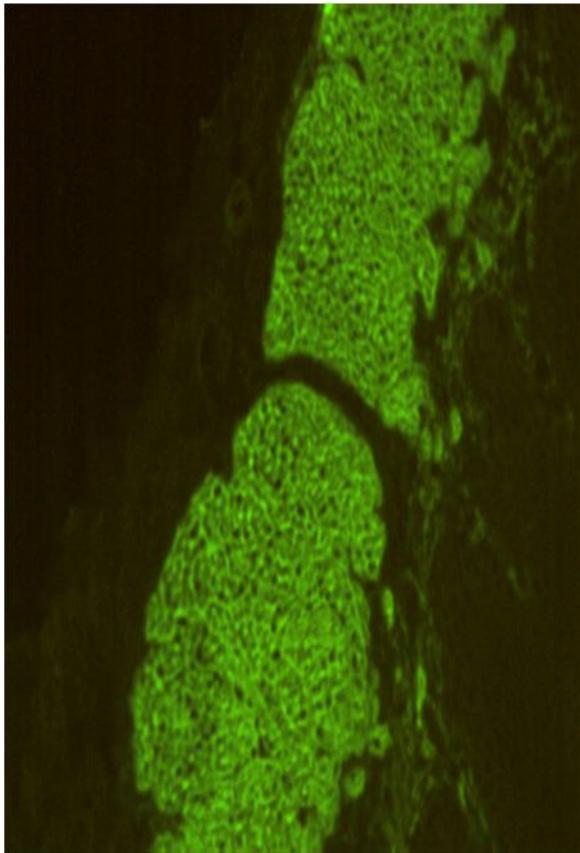
La especificidad es discretamente inferior en adultos que en niños

Anticuerpos anti-endomisio (EMA)

Esófago de mono

Cordón umbilical
humano

Intestino delgado
de mono



Menor sensibilidad en niños de 1 a 3 años

Se puede encontrar positivos débiles de este marcador en niños con intolerancia a la leche de vaca

Poca o nula utilidad en detección de transgresiones dietarias

Sus resultados tienen paralelismo con la intensidad de las lesiones vellositarias y la extensión de la enfermedad.

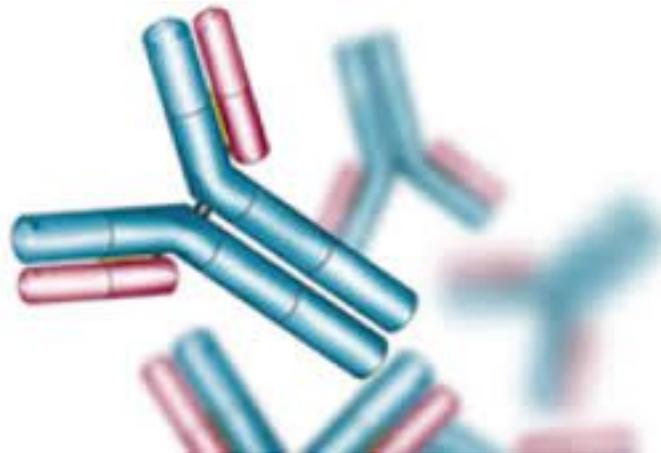
En pacientes con DA IgA, se determinan los EMA de clase IgG, cuya imagen al microscopio suele presentar fluorescencia inespecífica, ofreciendo un patrón más difícil de interpretar que el de los de clase IgA.

La sensibilidad en adultos es alrededor de 90% y E 100 %, el VPP es de 100 % y el VPN es de 88 a 100 %

En pediatría sensibilidad es de 78 a 95%, la especificidad de 90 a 100 %, el VPP de 80 a 100 % y el VPN de 72 a 100 %

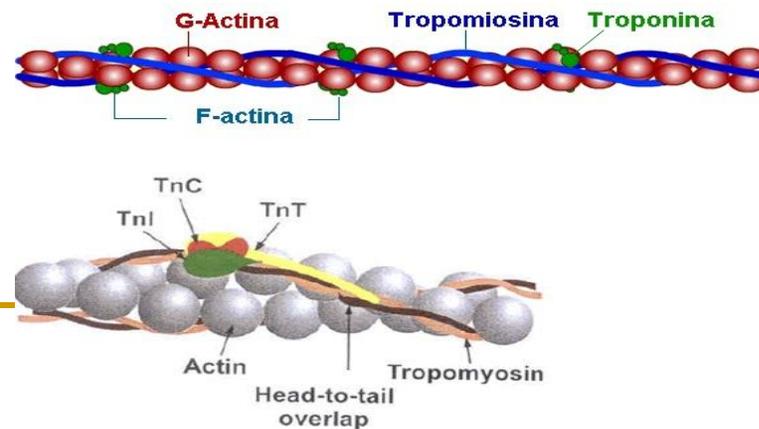
La S en atrofia total es 100 % pero es de 31 % en atrofia parcial

Otros autores dicen que la S y E es independiente del grado de atrofia

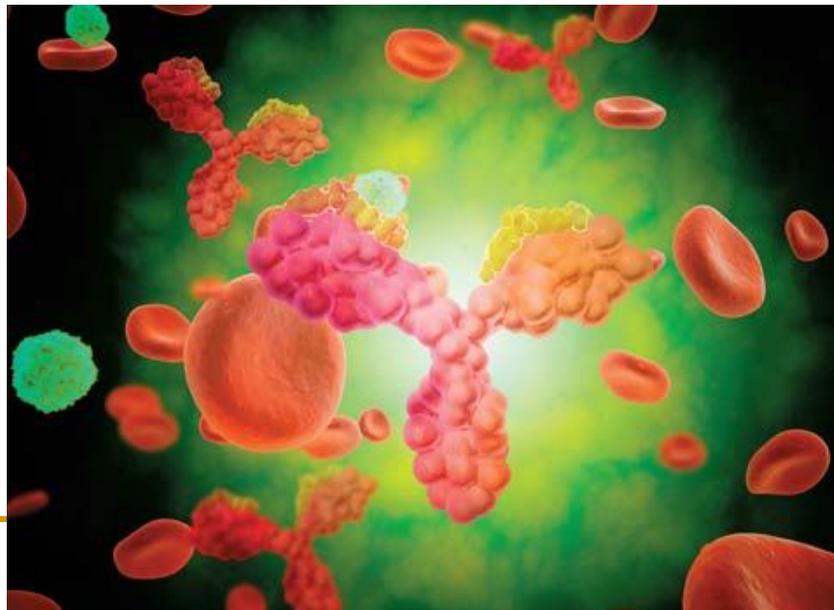


ACTINA

- Componente central del citoesqueleto.
- Existe en forma Monomérica (G) y Polimérica Filamentosa (F)
- Función: condiciona y actúa en la morfología celular, en sus cambios y motilidad.
- Es un Neo Epitope en la Enfermedad celíaca (es sustrato de la TTG)
- Existe una significativa correlación inversa entre el valor de anticuerpos AAA y la relación vellosidad / cripta.
- Es útil en lesiones en parches o en cuadros de histología compleja.



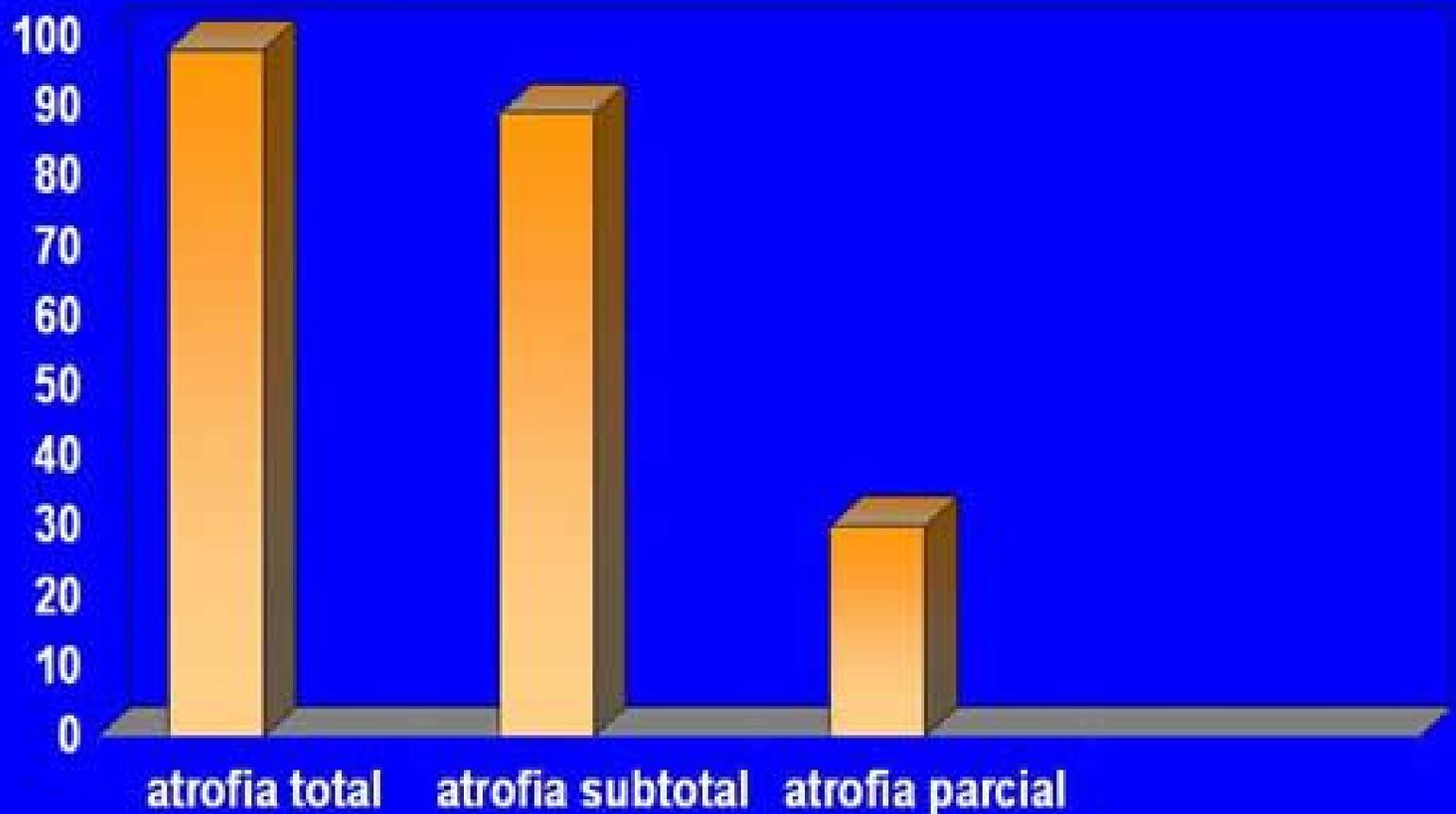
- Útil en pacientes con **EMA negativo** y alta sospecha clínica (ya que se originan, de procesos fisiológicos independientes).
- Caracteriza a un subgrupo de pacientes de mayor riesgo y severidad en la evolución clínica y mayor asociación con otras patologías autoinmunes.
- Disminuye su concentración con la DLG.



ANTICUERPOS ANTIACTINA IGA

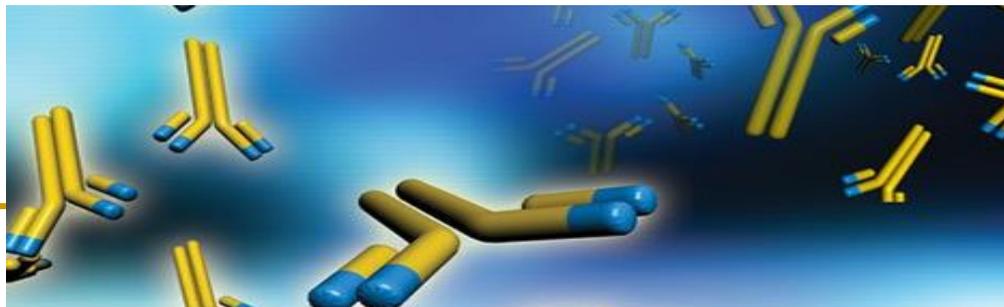
- Útiles en lesiones en parches o en cuadros de histología difícil
 - Mayor proporción de negativos en la edad pediátrica que en adultos
 - Correlaciona inversamente el valor de anticuerpos y la relación vellosidad / cripta.
 - Útiles en pacientes con EMA negativo y alta sospecha clínica (ya que se originan, de procesos fisiológicos independientes.
 - Presentan cuadros mas severos ,con mayor cantidad de complicaciones y asociaciones con otras patologías autoinmunes
 - Falsos positivos: enfermedades hepáticas autoinmunes.
 - Método: IFI (impronta con intestino de rata)
-

Prevalencia de positividad de AAA en función del grado de atrofia



ANTICUERPOS ANTIPEPTIDOS DE GLIADINA DEAMINADOS (DGP)

- Los IgA discriminan mejor que los AGA entre pacientes con EC en población pediátrica.
- Los IgA pueden ser positivos en niños < 2 años con sospecha clínica y ATGT-IgA negativa.
- Los DGP-IgA aparecen antes que los ATGT-IgA.
- Hay estudios que equiparan el rendimiento diagnóstico de los DGP – IgG con el de los ATGT IgA.
- DGP IGG son los mejores ac para los pacientes con déficit de IgA
- En algunos trabajos en infantes muestran que los altas concentraciones de DGP correlacionan con la severidad del daño intestinal
- Se usan para evaluar DLG



DGP IGA

- ADULTOS
- S 83.6-98.3%
- E 90.3 -99.1%

- DGP IGG
- S 84.4 A 96.7 %
- E 98,5 A 100 %

- ANTI DGP principalmente IGG mantiene una alta especificidad y es positivo en la mayoría de los adultos y niños con ATTG negativa y en pacientes con déficit de IgA



Genética de la Celiaquía

HLA –DQ2

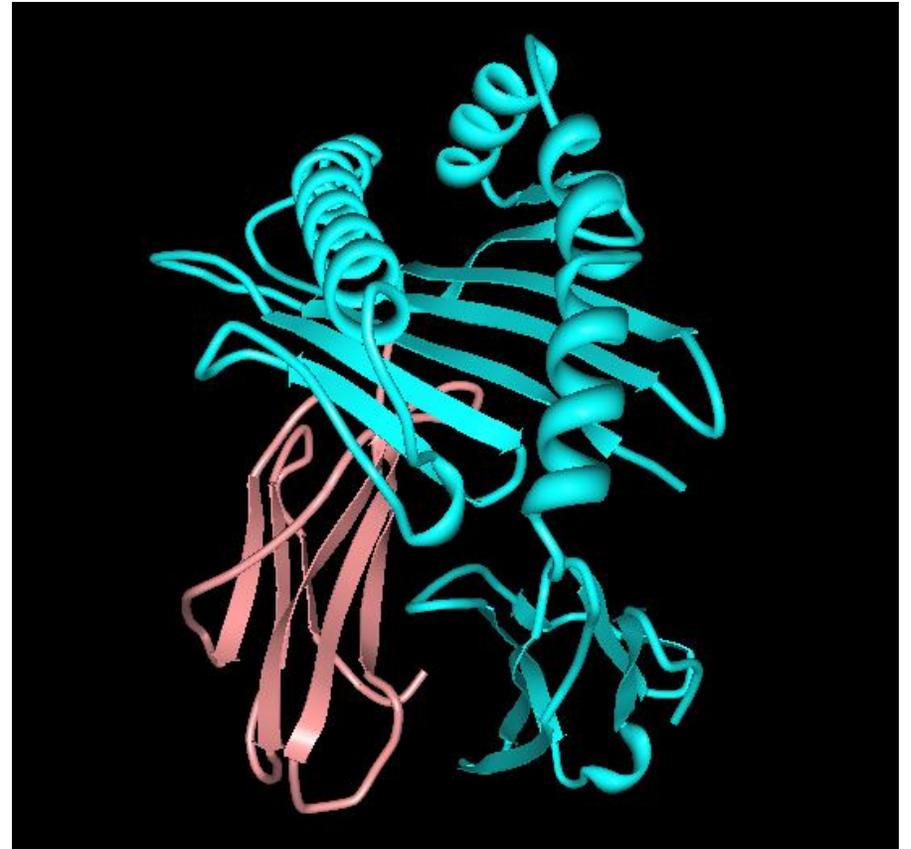
(A1*0501/B1*0201)

está presente en el 90-95%
de los pacientes celíacos
mientras que el

5-10% restante presenta el
alelo

HLA-DQ8

(A1*0301/B1*0302)



El Diagrama de Venn propuesto para la base genética de la EC. Ofrece una herramienta útil en la comprensión de este fenómeno. La presencia de los alelos HLA-DQ2/DQ8 es una condición necesaria, pero no suficiente. Esta característica determina que existan individuos con los alelos de susceptibilidad que nunca desarrollen la enfermedad. Este grupo está conformado por el 20-30 % de la población general de Europa y EE. UU. y solo del 1-3 % de estos individuos genéticamente predispuestos desarrolla la enfermedad. Estos valores indican la participación de otros factores, ya sean inmunológicos o ambientales en la presentación de la EC.⁹

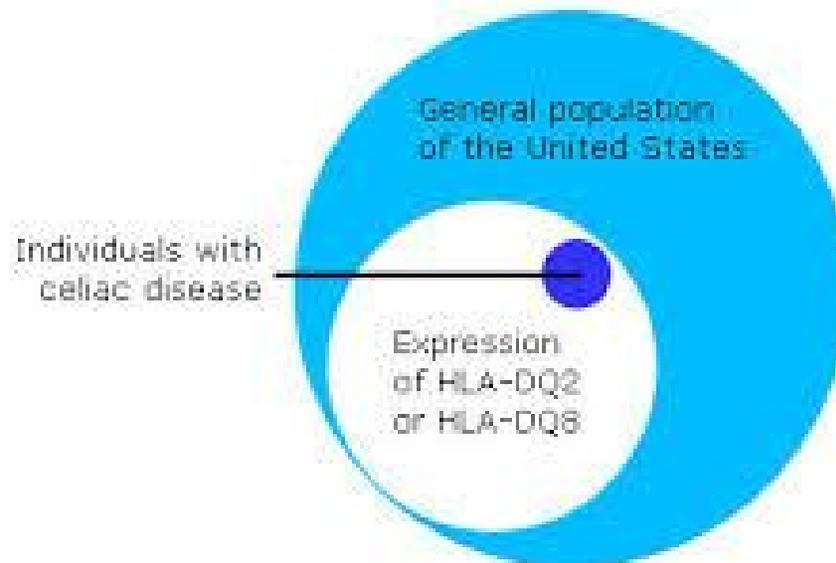
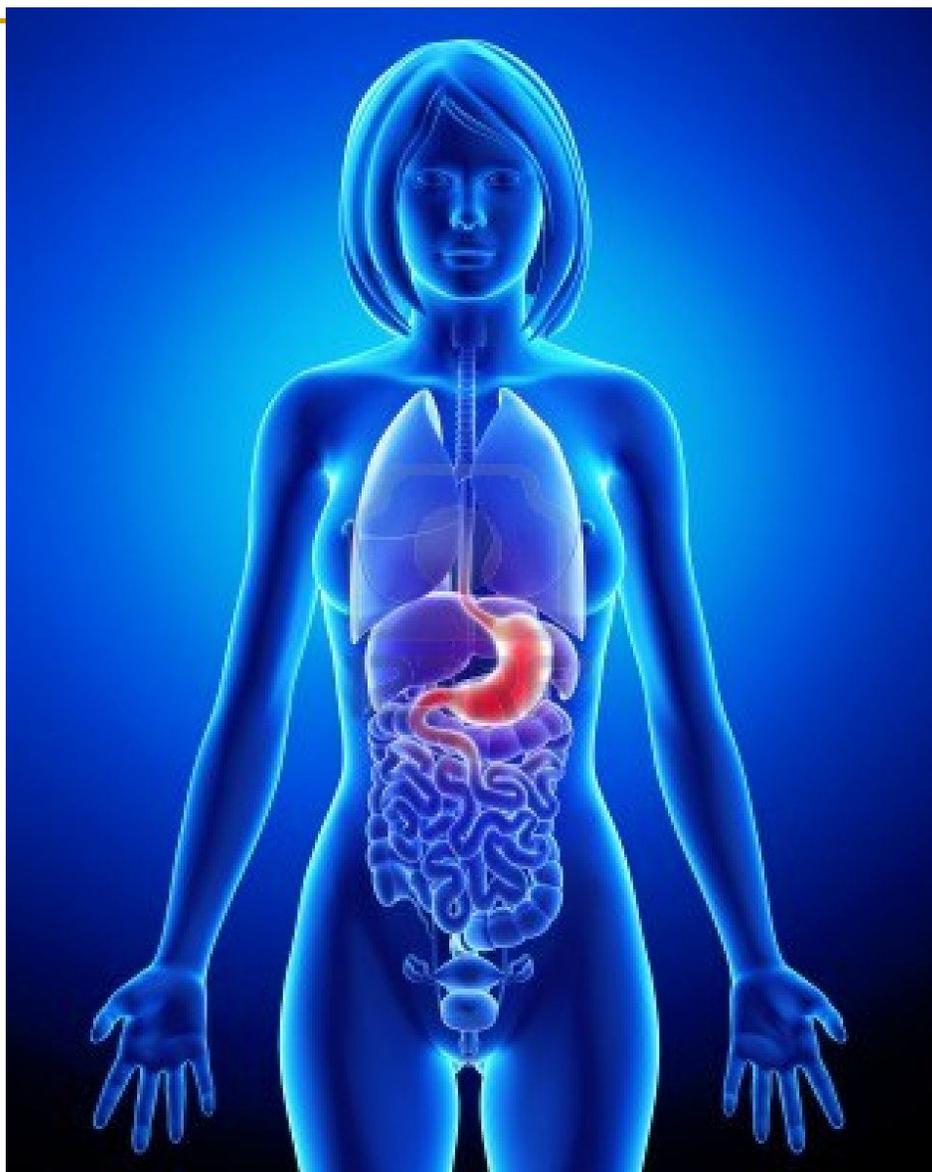


Fig. 1. Diagrama de Venn propuesto para explicar la relación entre los alelos HLA-DQ2/DQ8 y la EC.

9. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Coletti RB, Fasano A, Guardalini S, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2005;40:1-19.



cyene@cibic.com.ar