

# **TÉCNICAS DE AGLUTINACIÓN**

## DIRECTAS

el **antígeno** es por sí mismo **particulado**, por lo que no requiere fijación a soportes inertes.

- Rápida, en placas
- Lenta, en tubos o microplacas

## INDIRECTAS

**antígenos solubles** unidos a glóbulos rojos o partículas inertes como el poliestireno, látex y bentonita. En ocasiones, pueden utilizarse bacterias como soporte (*Micrococcus lysodeikticus*).

- Rápida, en placas
- Lenta, en tubos o microplacas

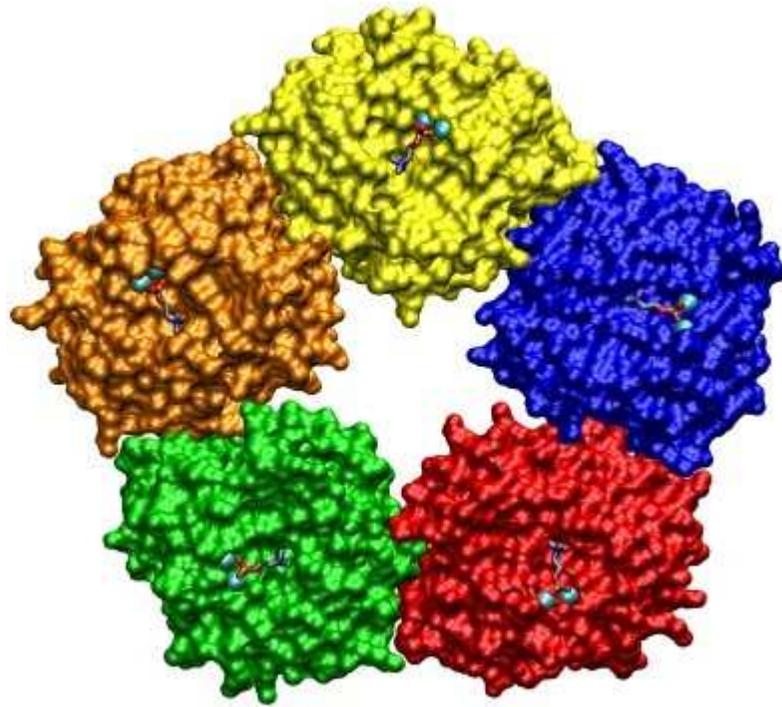
## Aglutinación indirecta en placas:

- Aglutinación de partículas de látex-ASO
- látex-PCR
- látex-AR

## Aglutinación indirecta en policubetas:

- Hemaglutinación para *Tripanosoma cruzi*
- Hemaglutinación para *Toxoplasma gondii*
- Aglutinación de partículas de gelatina para HIV
- Aglutinación de partículas de gelatina para *Treponema pallidum* (TPPA)

# PROTEÍNA C REACTIVA



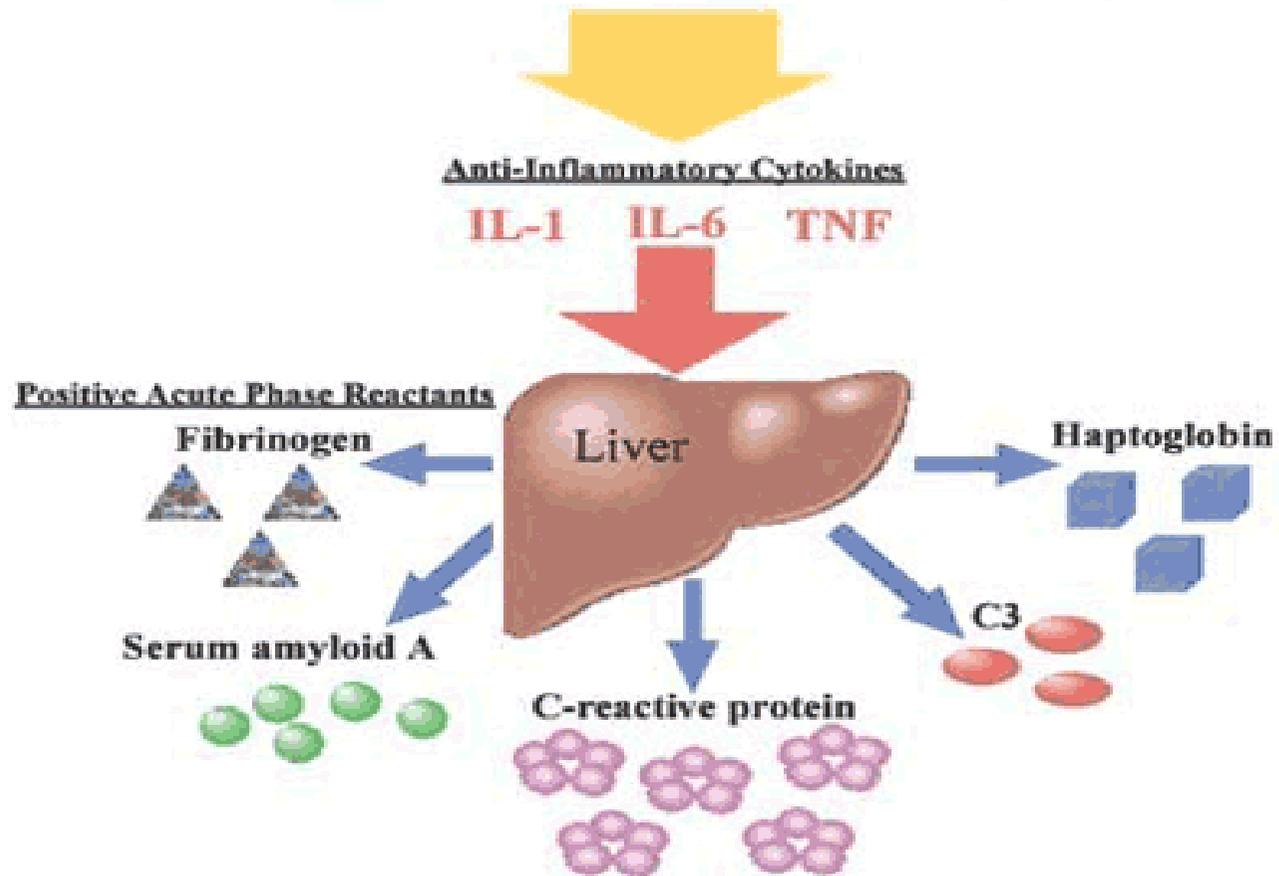
# Características

- Peso molecular 62.000
- Compuesta por una cadena larga y una pesada
- Sintetizada en el hígado, dependiente de Vitamina K
- Se llamó proteína C por su capacidad para reaccionar con el polisacárido C del *Streptococcus pneumoniae*

# Participación

- Indicador importante en inflamaciones agudas
- Factor importante de la coagulación, función anticoagulante que inactiva a los factores V y VIII de la coagulación.
- En el sistema inmune tiene participación con el sistema del complemento.
- Eleva la producción de la enzima PAI-1 (Inhibidora del activador del plasminógeno), producida por las células endoteliales aórticas, inhibiendo trombólisis.

# INFLAMMATION



# Aumento de PCR

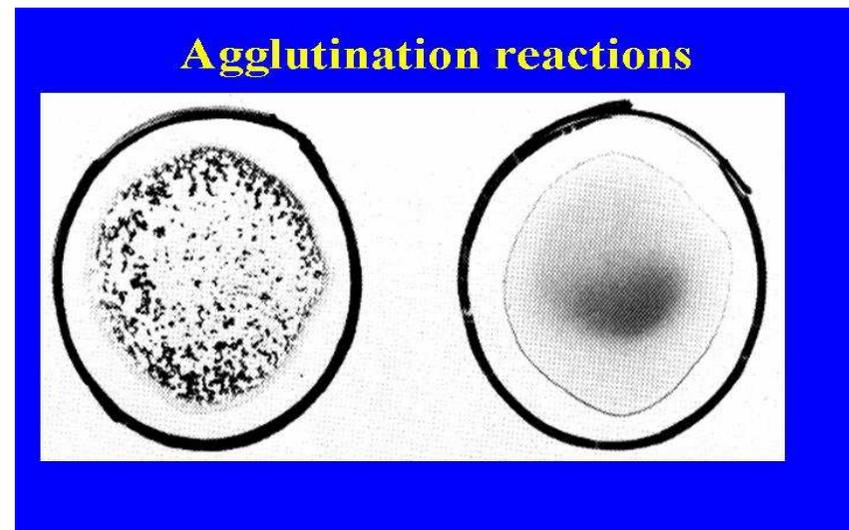
- Estados inflamatorios agudos:
- Infecciones
- Cirugía
- El rechazo de transplante de órganos ó de médula ósea.
- Traumatismos, fracturas ó quemaduras.
- Estados inflamatorios crónicos:
- Obesidad
- En el Síndrome Metabólico con insulinoresistencia
- En la DM tipo 2,
- En las enfermedades inflamatorias del tejido conectivo, como LES, AR

# PCR puede disminuir cuando:

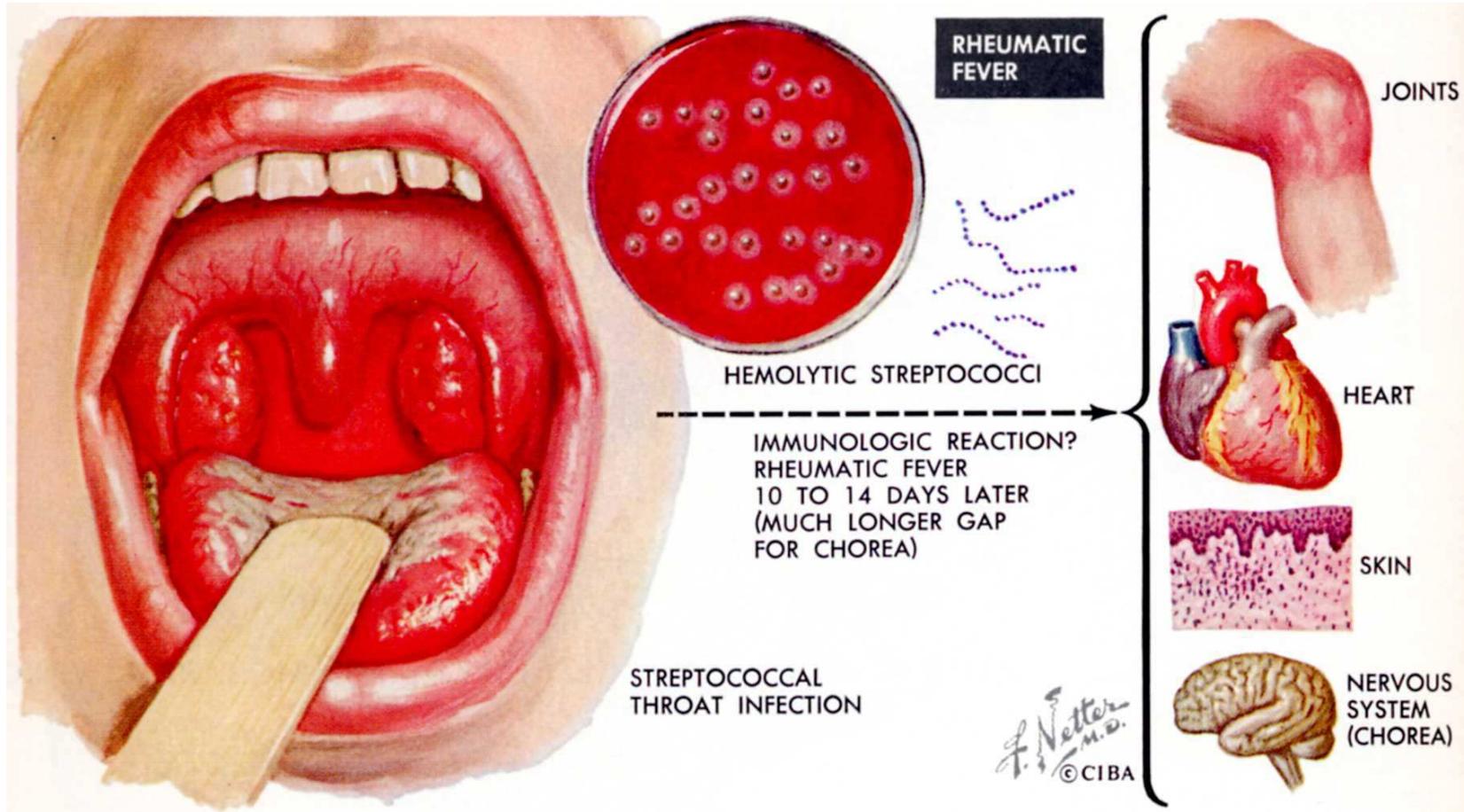
- Presencia de enfermedad hepática
- Quimioterapia
- Uso de Warfarina (anticoagulante)
- Trastornos de la coagulación

## PCR-látex

- **Ag:** Partículas de látex-poliestireno sensibilizadas con anticuerpos anti-PCR
- **MUESTRA:** suero, en caso de ser lipémicos o contaminado puede dar falsos +
- **VALOR DE REFERENCIA:** hasta 6 mg/dL
- **PCR:** título x sensibilidad (6 mg/dL)



# Fiebre reumática



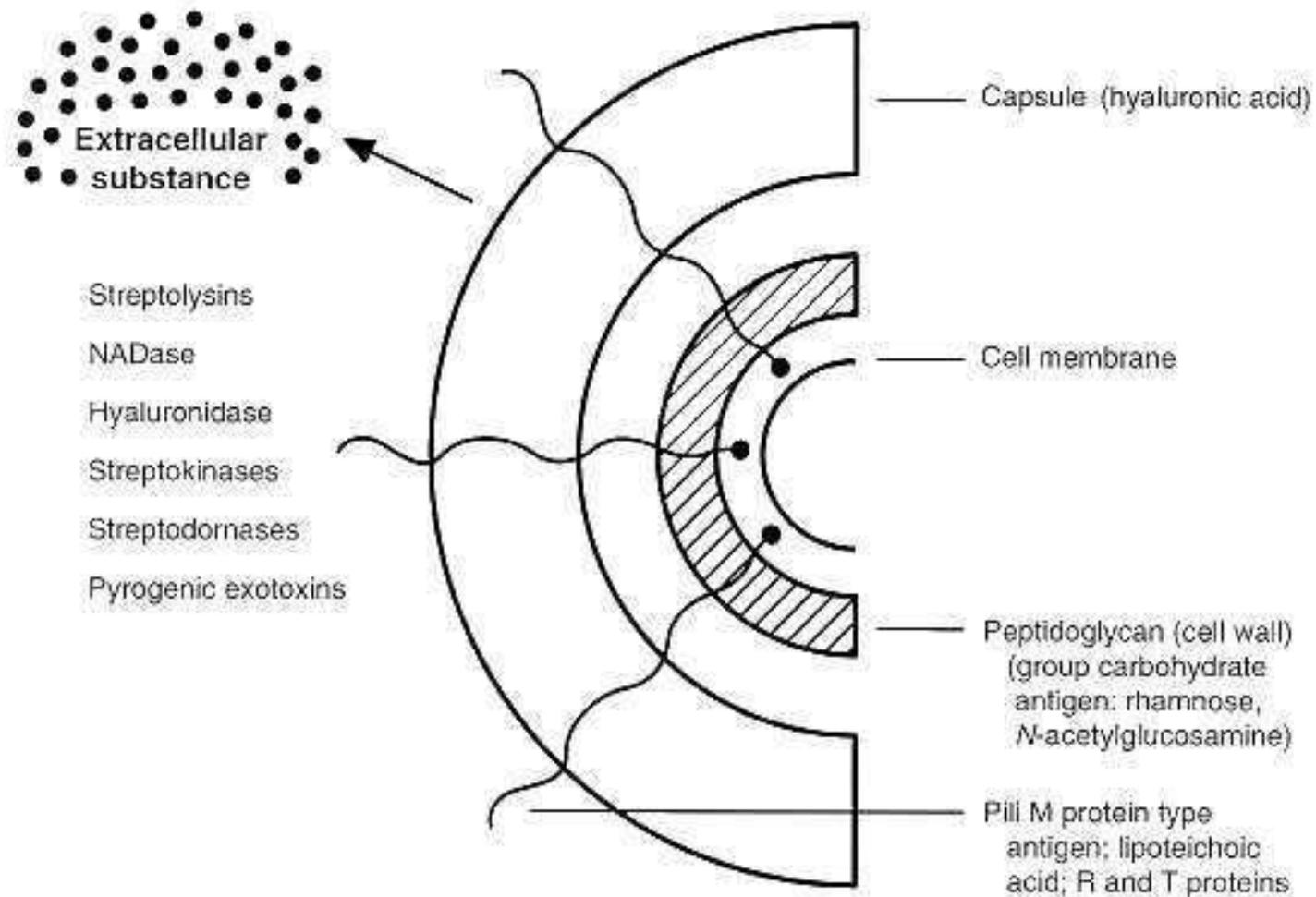
# FIEBRE REUMÁTICA

## **CONCEPTO**

Es una enfermedad inflamatoria aguda, autolimitada con gran tendencia a la recidiva. Afecta principalmente corazón, sinovial, sistema nervioso central, piel y tejidos conectivos. La manifestación clínica más frecuente es la artritis y la más grave la endocarditis.

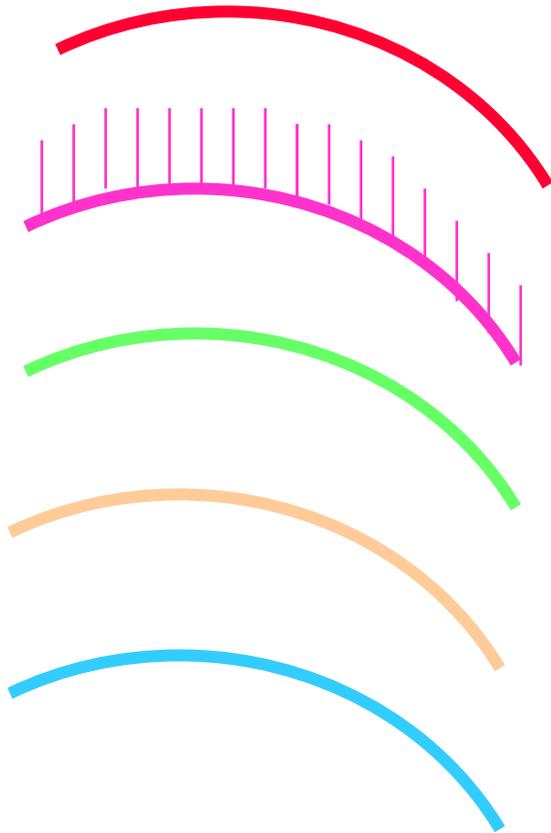
**ETIOLOGÍA** estreptococo beta hemolítico del grupo A

# Estreptococo



# ESTREPTOCOCO

## Antígenos de pared



cápsula: ac. hialurónico

capa externa: fimbrias

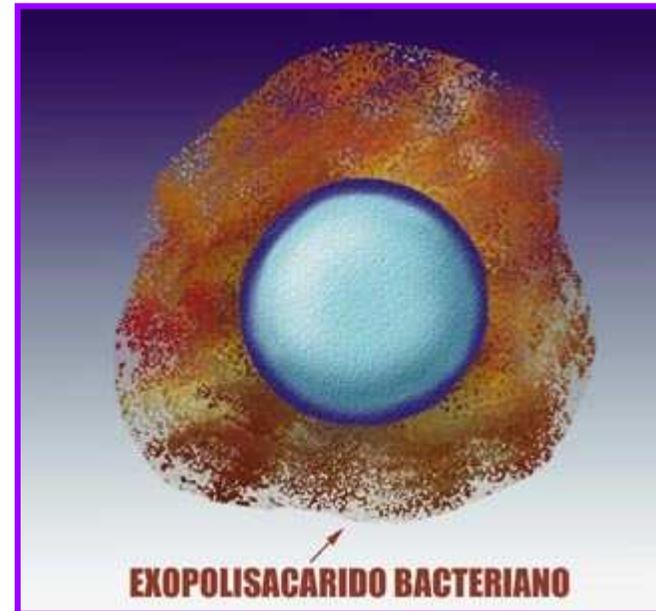
capa media: carbohidrato

capa interna: mucopéptidos

membrana protoplasmática:

lipoproteínas

# Cápsula



- Los grupos A y C poseen cápsula de ácido hialurónico, responsable de la colonia de tipo mucoide.
- La cápsula, es un polímero de ácido glucurónico y N-acetilglucosamina, probablemente no es antigénico.
- **La cápsula posee propiedades antifagocíticas.**
- Las propiedades antifagocíticas juegan un papel crítico en las invasiones.

# FIMBRIA



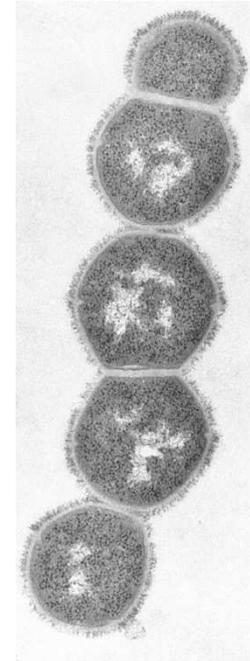
- Proyecciones filamentosas (fimbrias) han sido observadas por microscopía electrónica.
- Estas fimbrias son responsables de unir a las células epiteliales a los Streptococcus mediante la **colonización**.

# Proteína M



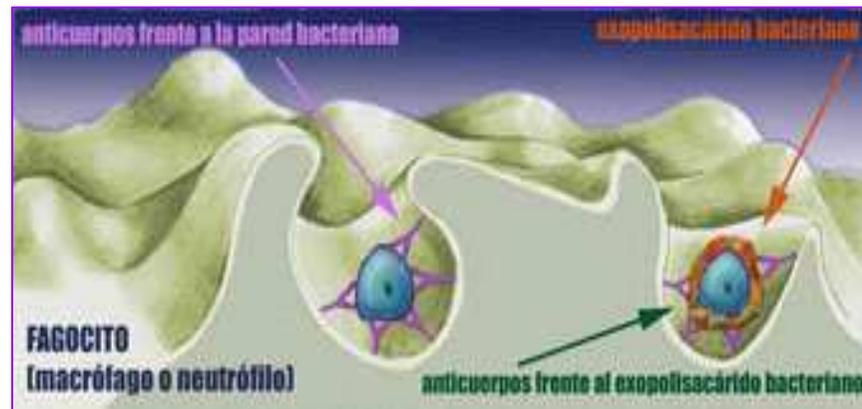
- Esta asociada a las fimbrias, es un importante antígeno de la pared celular, especialmente a los grupos A y C.
- Esta proteína es lábil a la tripsina y otras enzimas proteolíticas, pero puede ocurrir resíntesis.
- El antígeno está relacionado directamente a la virulencia del organismo porque su acción antifagocítica protege la célula de la ingestión de los leucocitos PMN.

# PATOGÉNESIS



- Cápsula, fimbria, y proteína M son de importancia para la colonización de los Streptococcus.
- Otros factores de virulencia son la estreptolisina O y S.
- *S. pyogenes* produce toxina eritrogénica, asociado con la fiebre escarlata, shock letal y citotoxicidad.
- La fiebre reumática es el resultado de lesión del tejido inmune que ocurre después de una infección a la garganta.

# PATOGÉNESIS



- Las reacciones inmunes producen gama globulina que se fija en los vasos sanguíneos a lo largo del miocardio en pacientes afectados.
- La proteína de M produce trombos, a nivel del músculo. .
- Esta proteína, causante de la nefritis tiene un peso molecular de aproximadamente 46,000 Da.

# Factores de virulencias: proteínas, toxinas y enzimas

| Factor de virulencia                              | Características  |
|---|--|
| <b>Hemolisinas O</b>                              | Antigénica, responsable de la $\beta$ hemólisis, tóxica a las células.                       |
| <b>Hemolisina S</b>                               | No antigénica, tóxica a las células.   |
| <b>Hialuronidasa</b>                              | Despolimeriza la sustancia fundamental de tejido conectivo para diseminarse por continuidad. |
| <b>Estreptocinasa</b>                             | Hidroliza coágulos de fibrina, impide la formación de fibrina en lesiones.                   |
| <b>Exotoxinas estreptocócicas pirógenas (SPE)</b> |  |

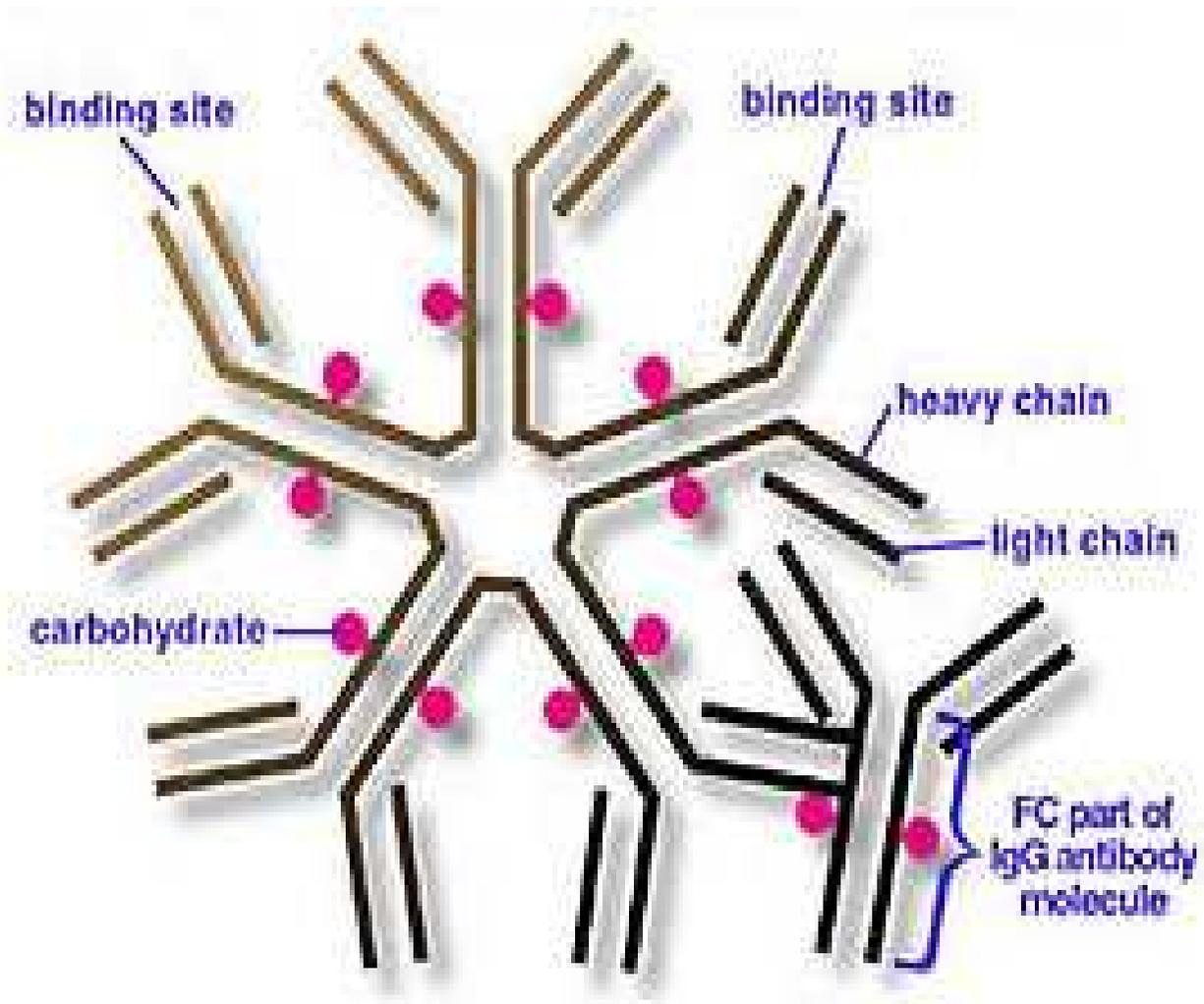
# ASO-látex

- Ag: suspensión de partículas de látex poliestireno recubiertas con estreptolisina O.
- 
- MUESTRA: suero
- Los sueros lipémicos o con contaminantes dan falsos +
- VALOR DE REFERENCIA: 200 UI/mL
- $ASO \text{ (UI/mL)} = \text{título} \times \text{sensibilidad (200 UI/mL)}$
- El título comienza a subir al 5° ó 6° día de la infección, es máximo a las 4 semanas (mes) y de ahí comienza a bajar, pudiendo normalizarse a los 3 ó 6 meses.

ARTRITEST

# ARTRITEST

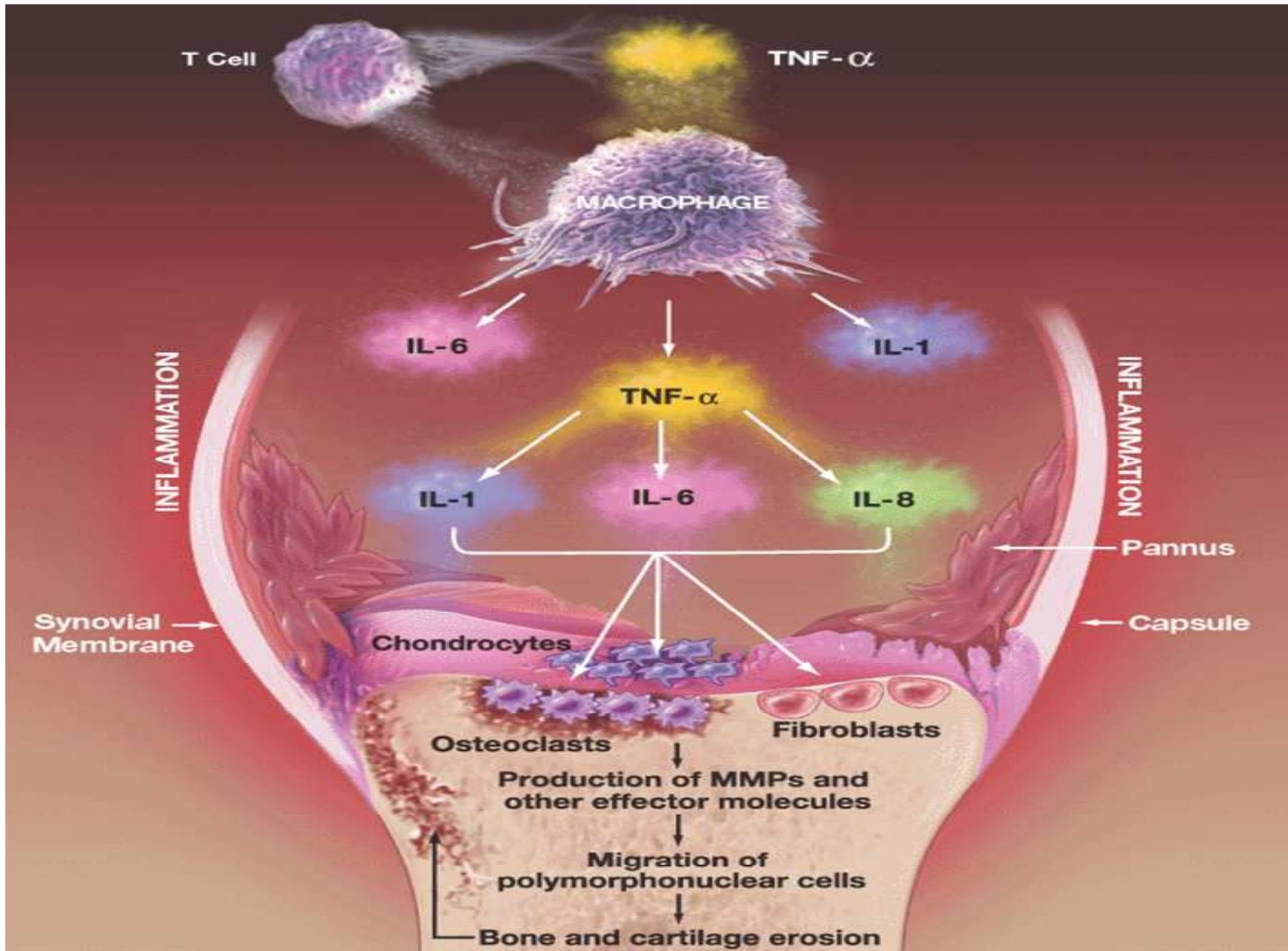
- Los Ac contra el FR son de tipo IgM se detecta en presencia de gamma-globulina humana adsorbida sobre un soporte inerte de látex- poliestireno.  
Placa de vidrio fondo negro.
- MUESTRA: suero  
Hemólisis y ciertas proteínas (distintas al FR) puede ser causa de resultados erróneos.
- $FR(UI/mL) = \text{título} \times \text{sensibilidad} (1 UI/mL)$



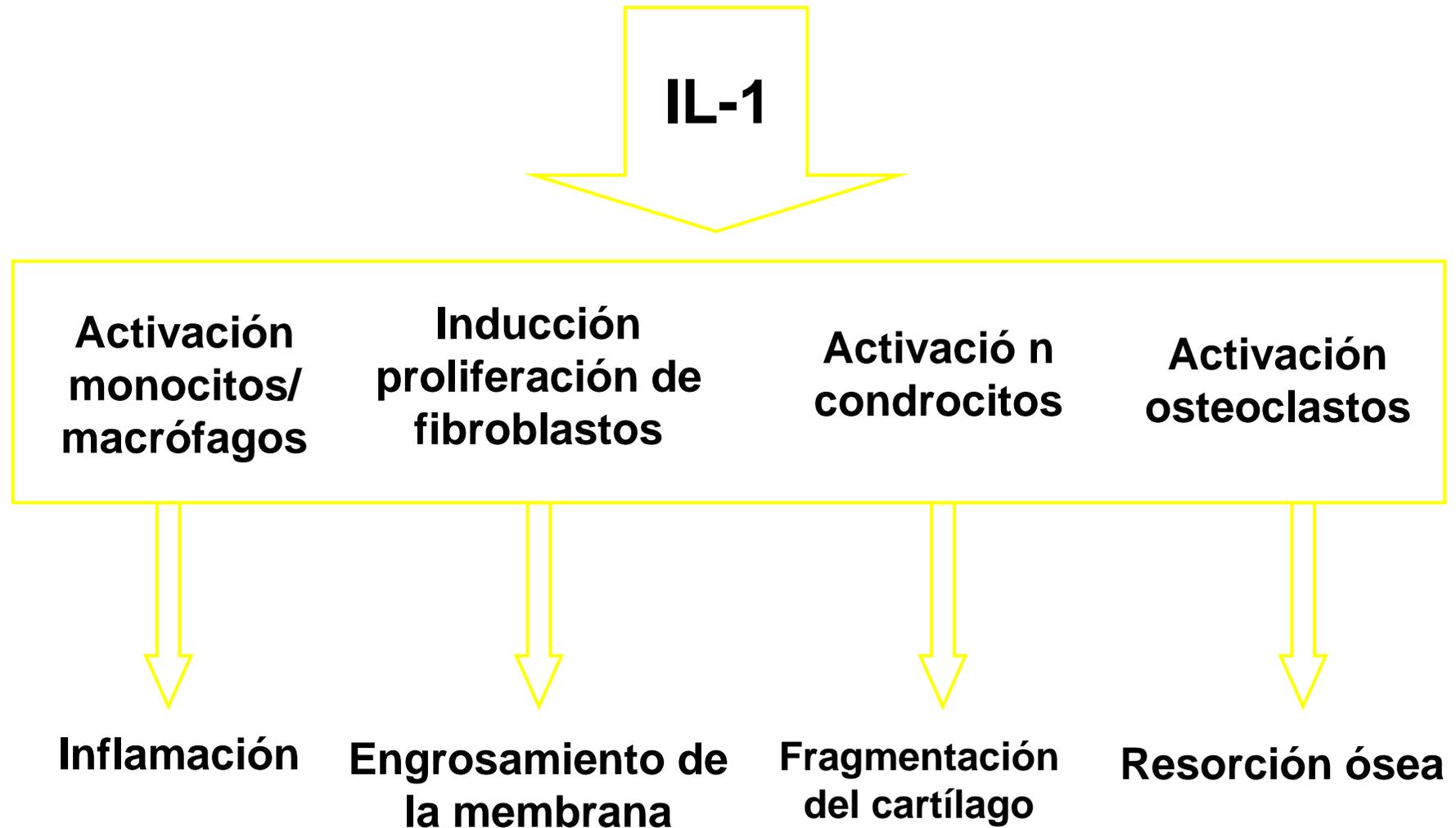
# ARTRITIS REUMATOIDE

La AR es una enfermedad inflamatoria que afecta a las pequeñas articulaciones de las extremidades dedos, articulaciones mayores (hombro, codo, rodilla y tobillo).

Caracterizada por: inflamación sinovial, asociada a destrucción del cartílago y hueso articular.



# Paper de IL-1 en el proceso inflamatorio en la destrucción articular



- El FR no es exclusivo de AR, porque también puede estar presente en el LES (30%) y en el Síndrome de Sjogren (90%) y con menor frecuencia en otras enfermedades autoinmunes, así como en afecciones inflamatorias e infecciones crónicas.
- Presencia de Factor Reumatoideo (FR), tanto en líquido sinovial como en suero. Son responsables también de las manifestaciones extraarticulares de la enfermedad, como la vasculitis.

¿Qué podemos observar?



**Manos en ráfaga**

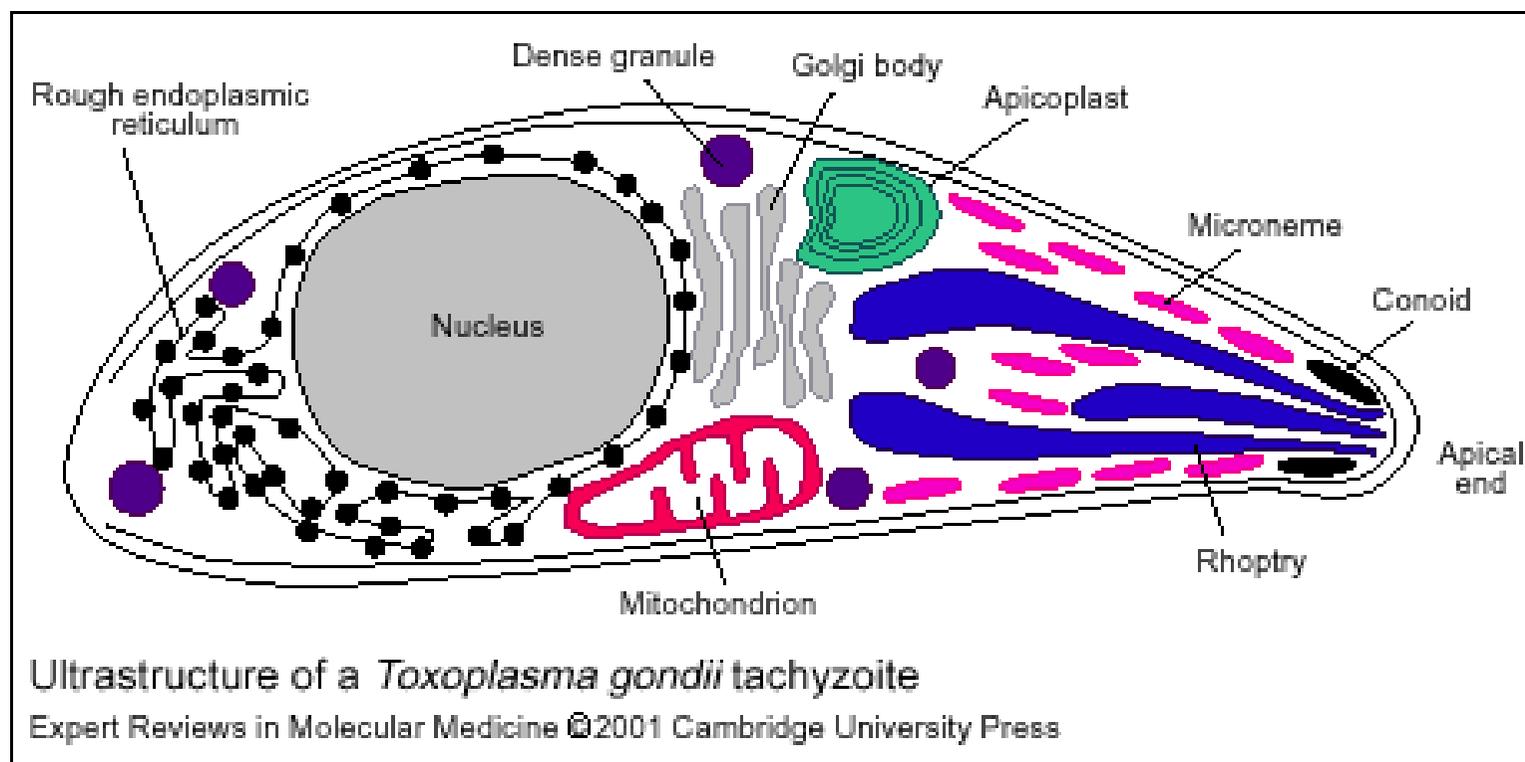


**Dedos en cuello de cisne: note las deformaciones en las manos, con hiperextensión a nivel de IFP y flexión en IFD. Clásicas secuelas de AR de larga data.**

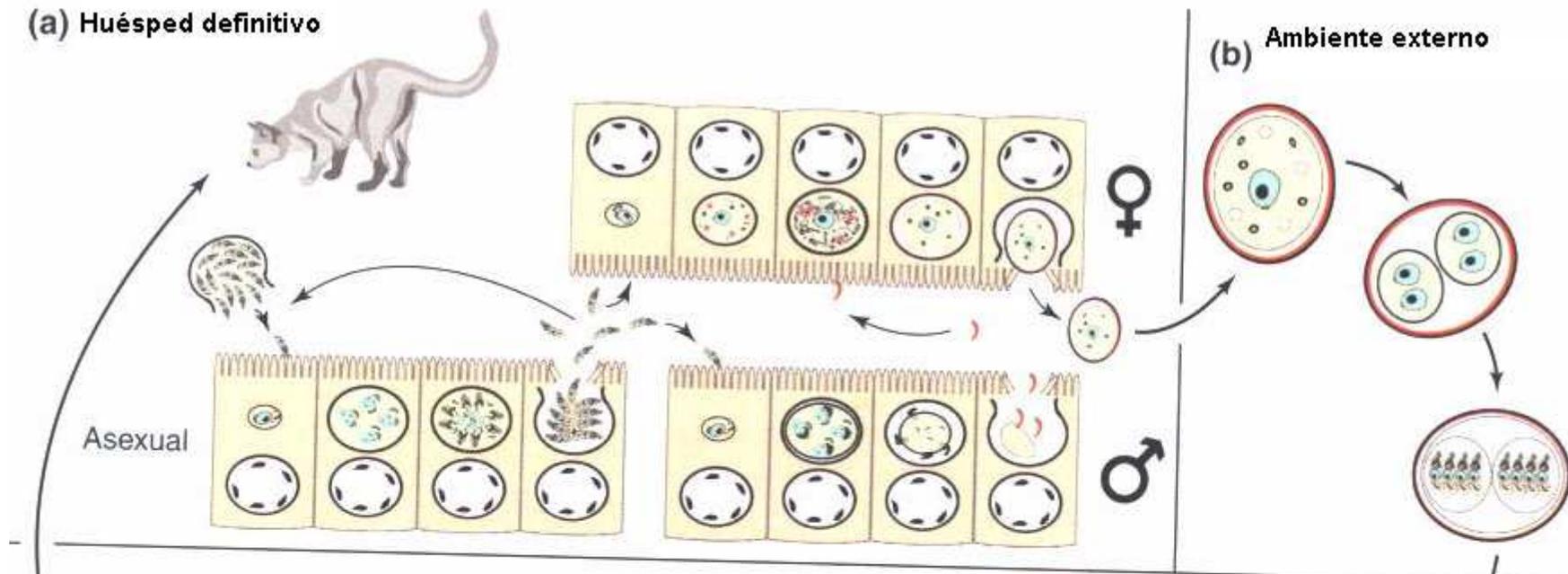
# TOXOPLASMA GONDII

<http://www-ermm.cbcu.cam.ac.uk>

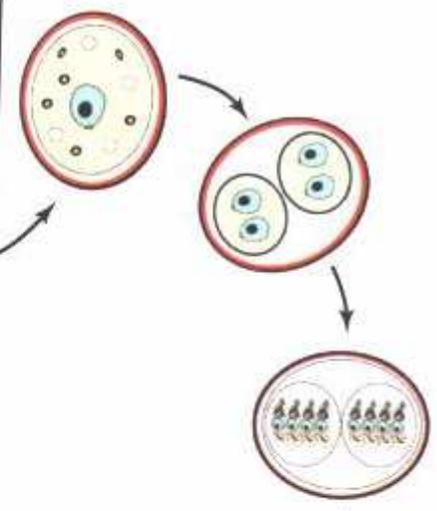
expert reviews  
in molecular medicine



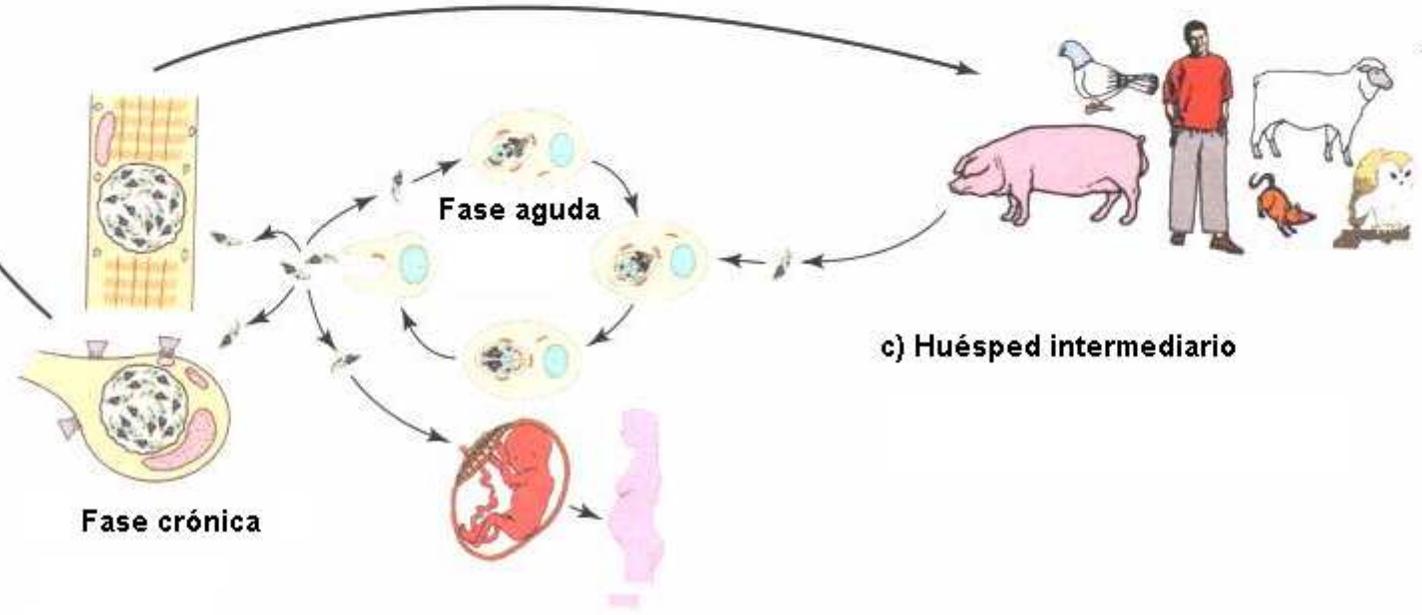
**(a) Huésped definitivo**



**(b) Ambiente externo**



**c) Huésped intermediario**



Asexual

Fase crónica

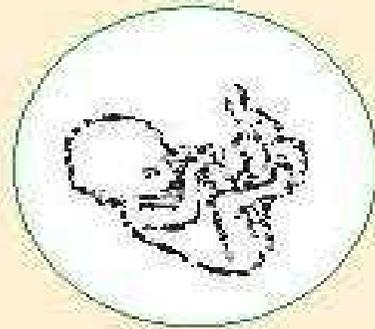
Fase aguda

## Edad de Gestación

## Infección Fetal

## Secuelas en el Feto

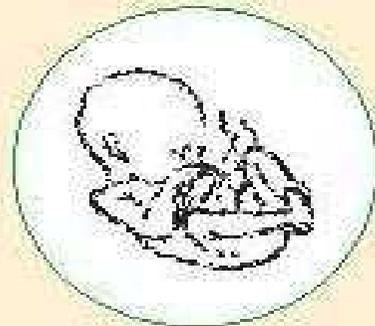
1er Trimestre



9%

MAYOR

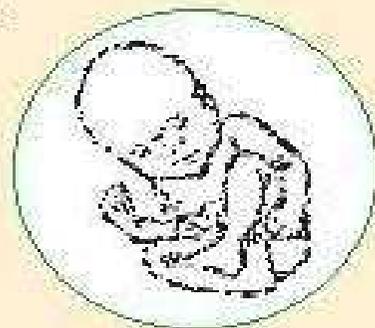
2do Trimestre



27%

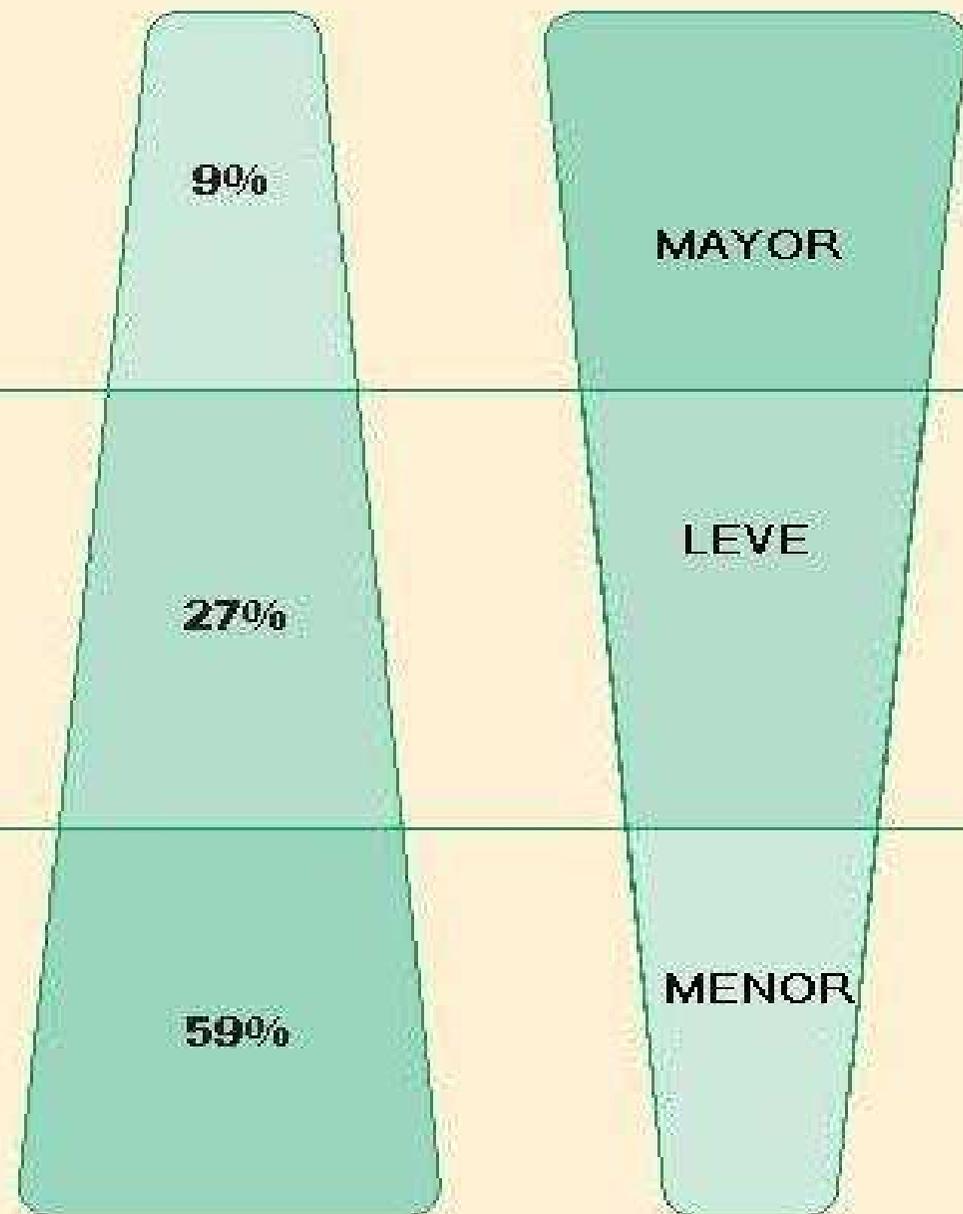
LEVE

3er Trimestre



59%

MENOR



## TOXOTEST-HAI

- Ag: Liofilizado de GR de carnero sensibilizados con Ag citoplasmático y de superficie de T. gondii.
- GR no sensibilizados: Suspensión al 1% de GR de carnero no sensibilizado para absorción de heterofilia.
- Buffer: PH 7,5 solución fisiológica con fosfato.
- Solución proteica: albúmina bovina.
- 2-ME al 1%

# TOXOPLASMOSIS- HAI

|         |
|---------|
| 1/16    |
| 1/32    |
| 1/64    |
| 1/128   |
| 1/256   |
| 1/512   |
| 1/1.024 |

150  $\mu$ L de buffer + 10  $\mu$ L suero

20  $\mu$ L de buffer



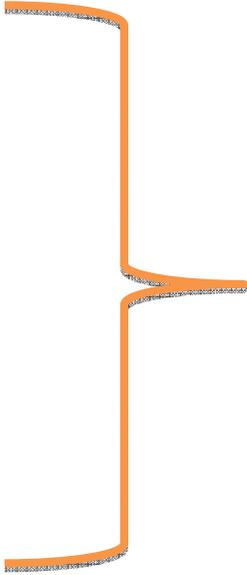
20  $\mu$ L



desechar

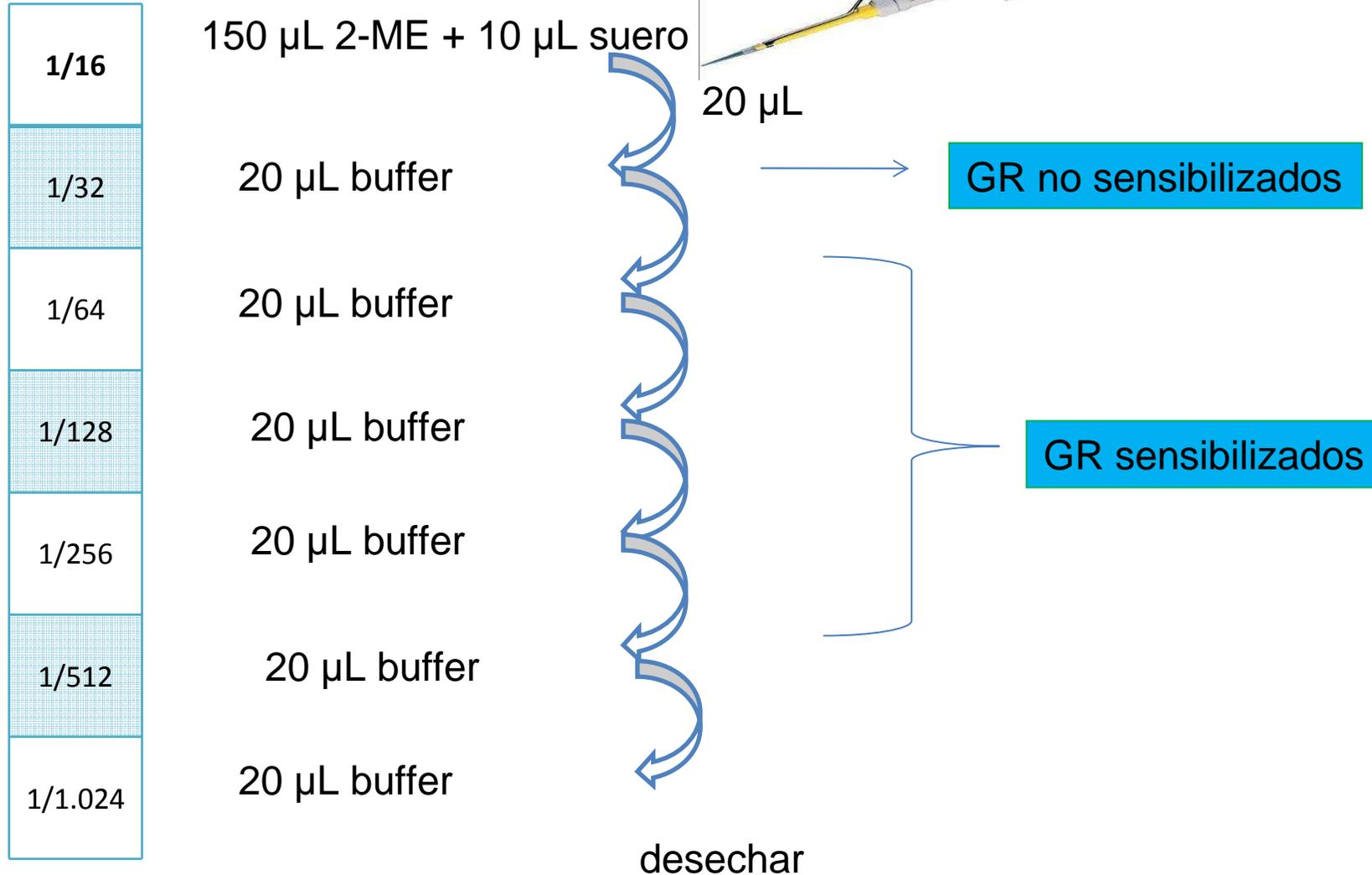


GR no sensibilizados  
20  $\mu$ L

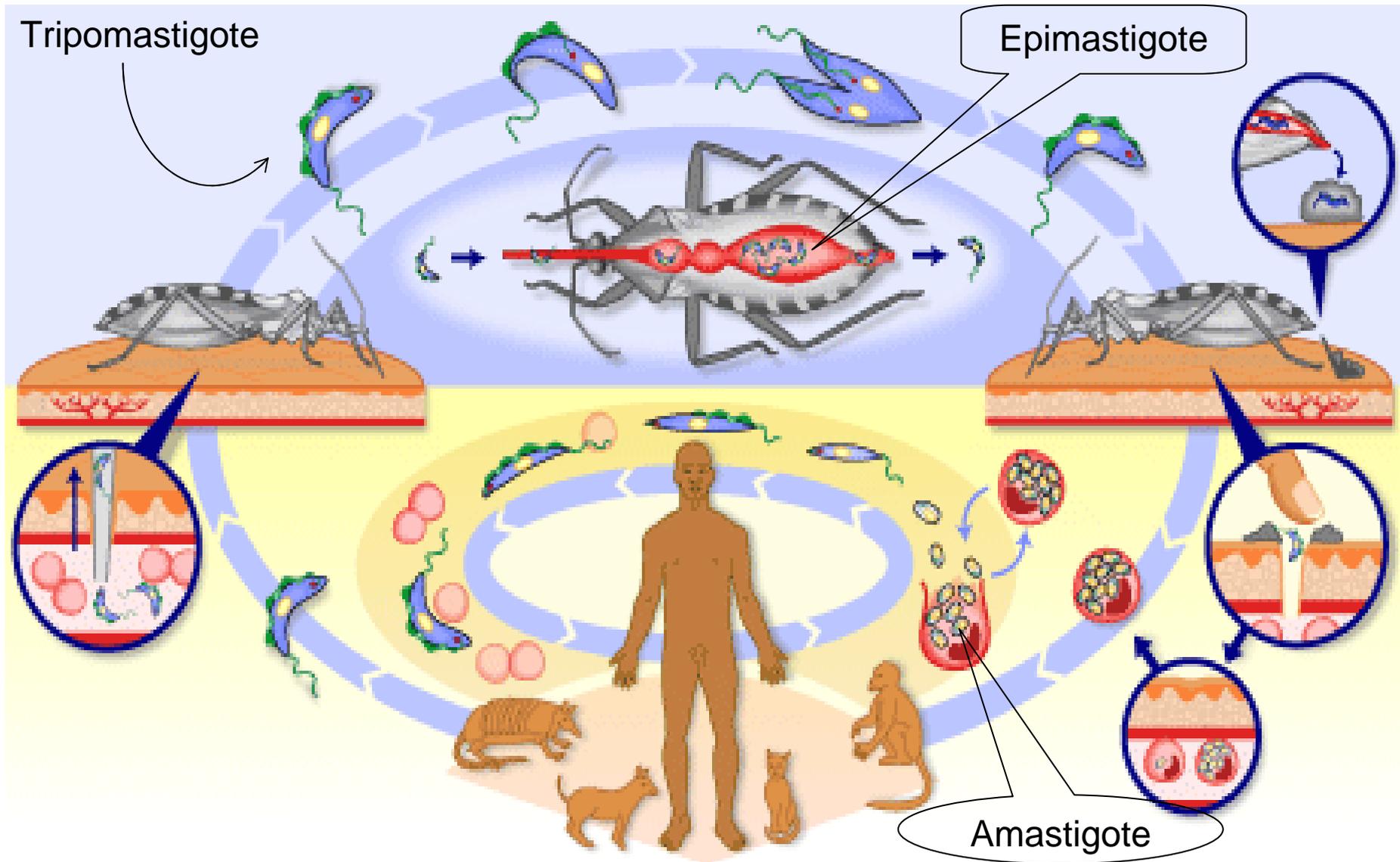


GR sensibilizados  
20  $\mu$ L

# ELIMINAR HETEROFILIA

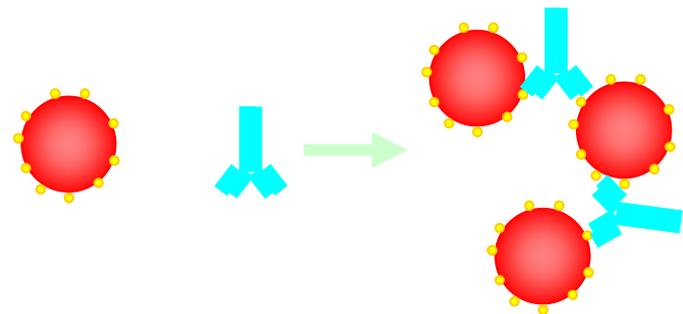


# Ciclo Biológico del Tripanosoma cruzi



# Pruebas Convencionales - HAI

- ✓ Utilizada desde 1962
- ✓ Detección de Ac IgG
- ✓ Bajo costo
- ✓ Lectura visual
  - **Subjetiva**
- ✓ Valor de corte en el escrutinio: 1/32
  - **Alto % de RFN y RFP**
- ✓ Estuches diagnósticos con desempeño y componentes variables



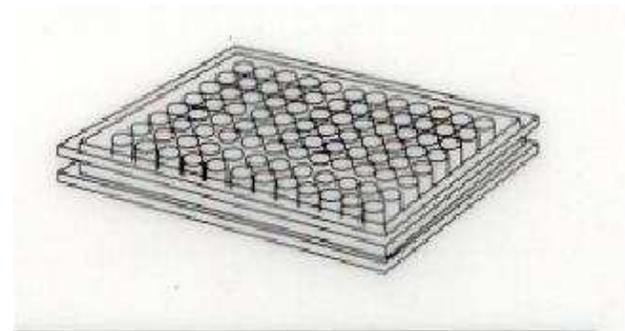
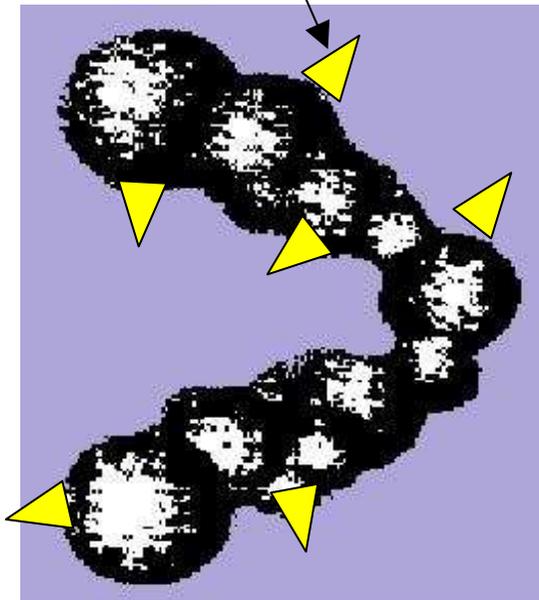
## *Duplas serológicas*

- HAI-ELISA
- HAI-IFI
- ELISA-IFI

**Sensibilidad: 99,8%**

# GR sensibilizados

Ag de *Trypanosoma cruzi*  
inactivado



+ Ac Anti-T. cruzi → AGLUTINACIÓN



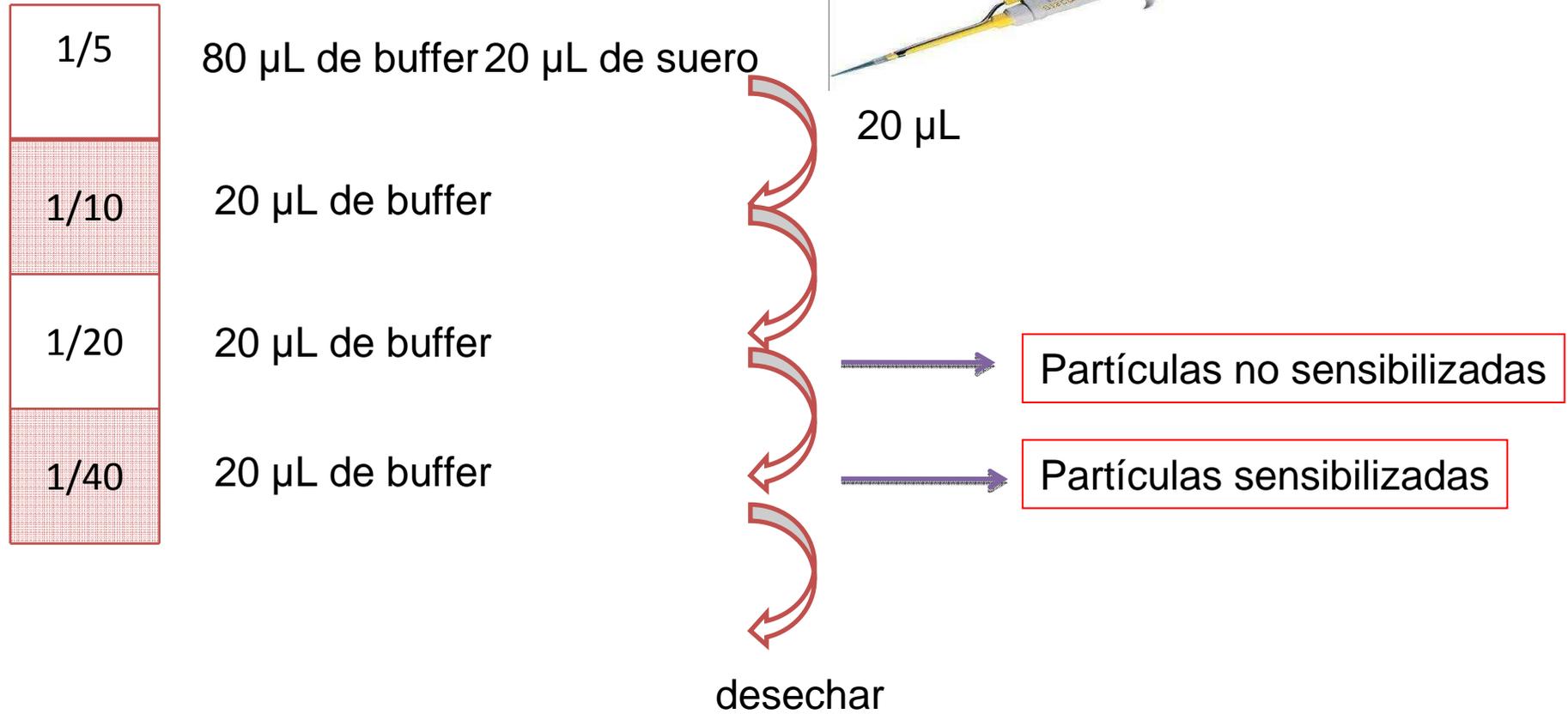
# Pruebas treponémicas

- Detecta *Treponema pallidum* mediante la aglutinación de partículas (TP-PA). Están dirigidas a **anticuerpos específicos** contra esta espiroqueta y son más sensibles debido a que los anticuerpos contra *T. pallidum* preceden por lo general a los anticuerpos antilipídicos. En general, la sensibilidad de la prueba TP-PA es mayor que la de VDRL y la de RPR (88% frente a 78% y 86%, respectivamente).

## TP-PA

- **PARTÍCULAS SENSIBILIZADAS:** Partículas de gelatina recubiertas con *Treponema pallidum*.
- **PARTÍCULAS NO SENSIBILIZADAS:** Partículas de gelatina coloreadas.
- **DILUYENTE DE MUESTRA**

# TP-PA



# HETEROFILIA



0,95 mL partículas no sensibilizadas + 50  $\mu$ L suero

T ambiente 20 min



centrifugar



usar el sobrenadante  
como muestra

## HIV-CUALITATIVO

- Diluyente de muestra
- Partículas sensibilizadas: Partículas de gelatina sensibilizadas con Ag recombinantes de VIH-1 y VIH-2.
- Partículas no sensibilizadas: Partículas de gelatina con extracto de E. coli.
- ***Técnicas menos complejas metodológicamente que los ELISA, más rápidas y baratas.***

