

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

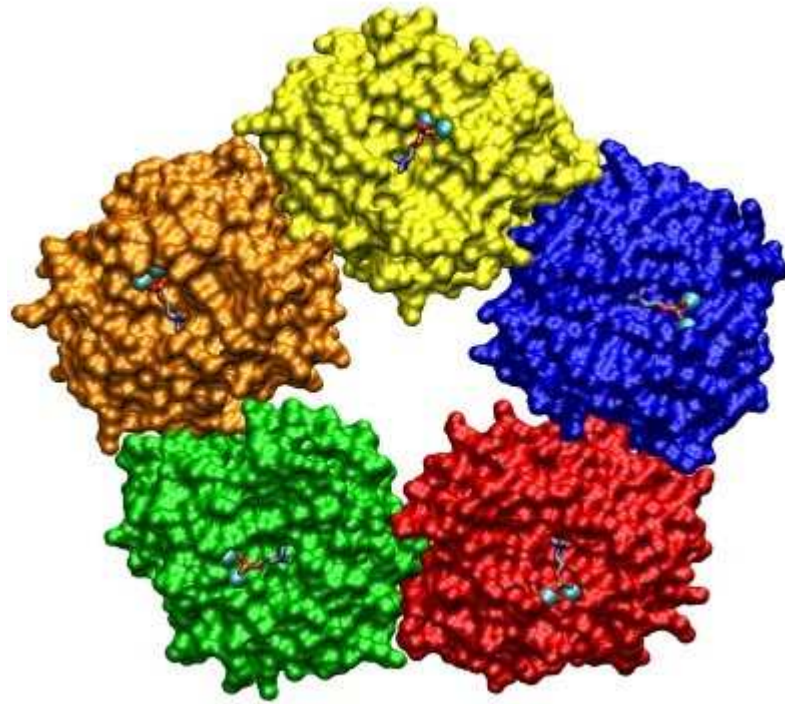
Aglutinación indirecta en placas:

- 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



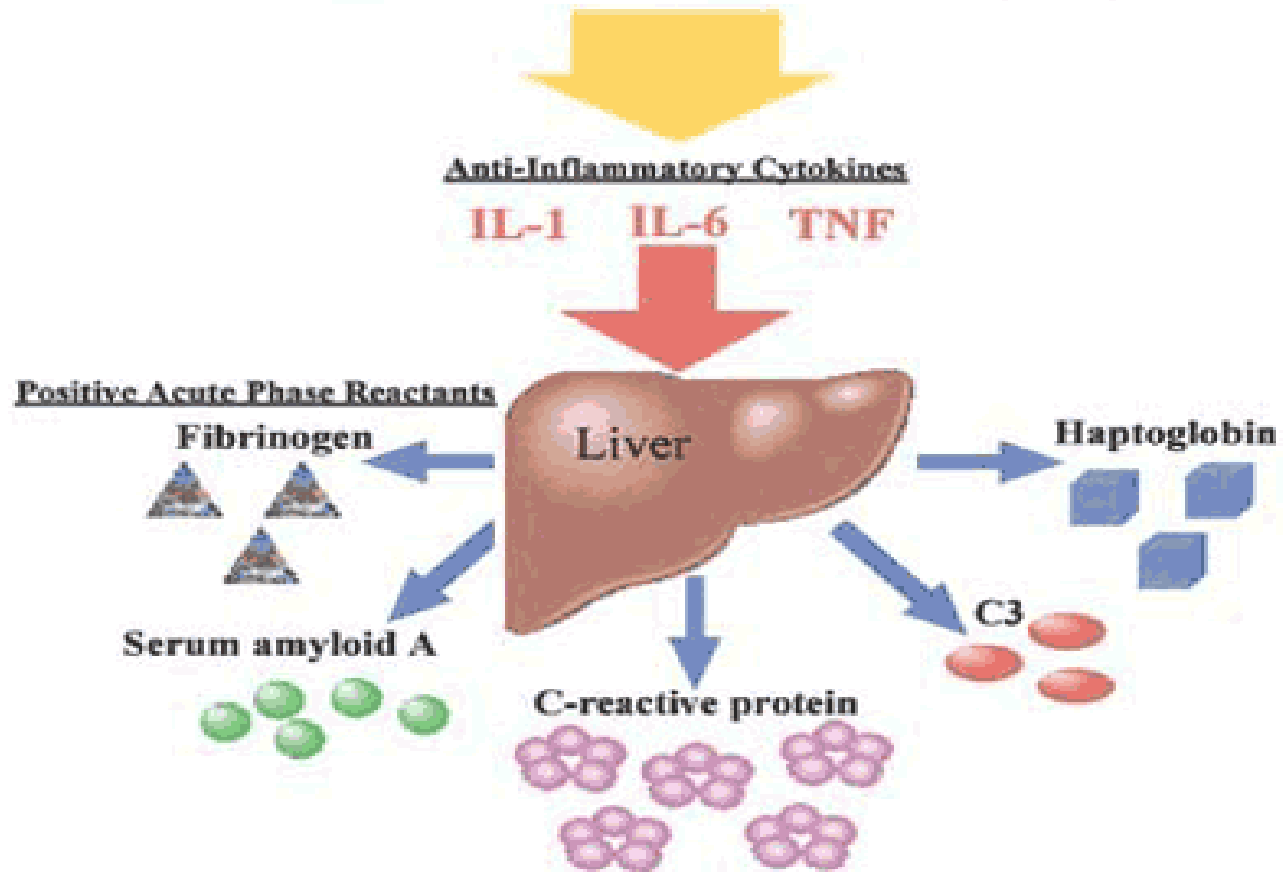
Características

- 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

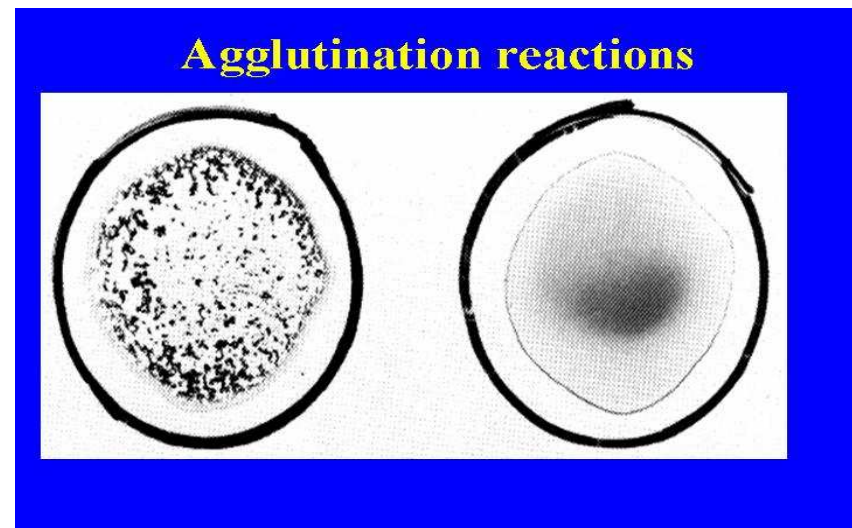
- Estados inflamatorios agudos:
- Infecciones
- Cirugía
- El rechazo de transplante de órganos ó de médula ósea.
- Traumatismos, fracturas ó quemaduras.
- Estados inflamatorios crónicos:
- Obesidad
- En el Síndrome Metabólico con insulinoresistencia
- En la DM tipo 2,
- En las enfermedades inflamatorias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

PCR puede disminuir cuando:

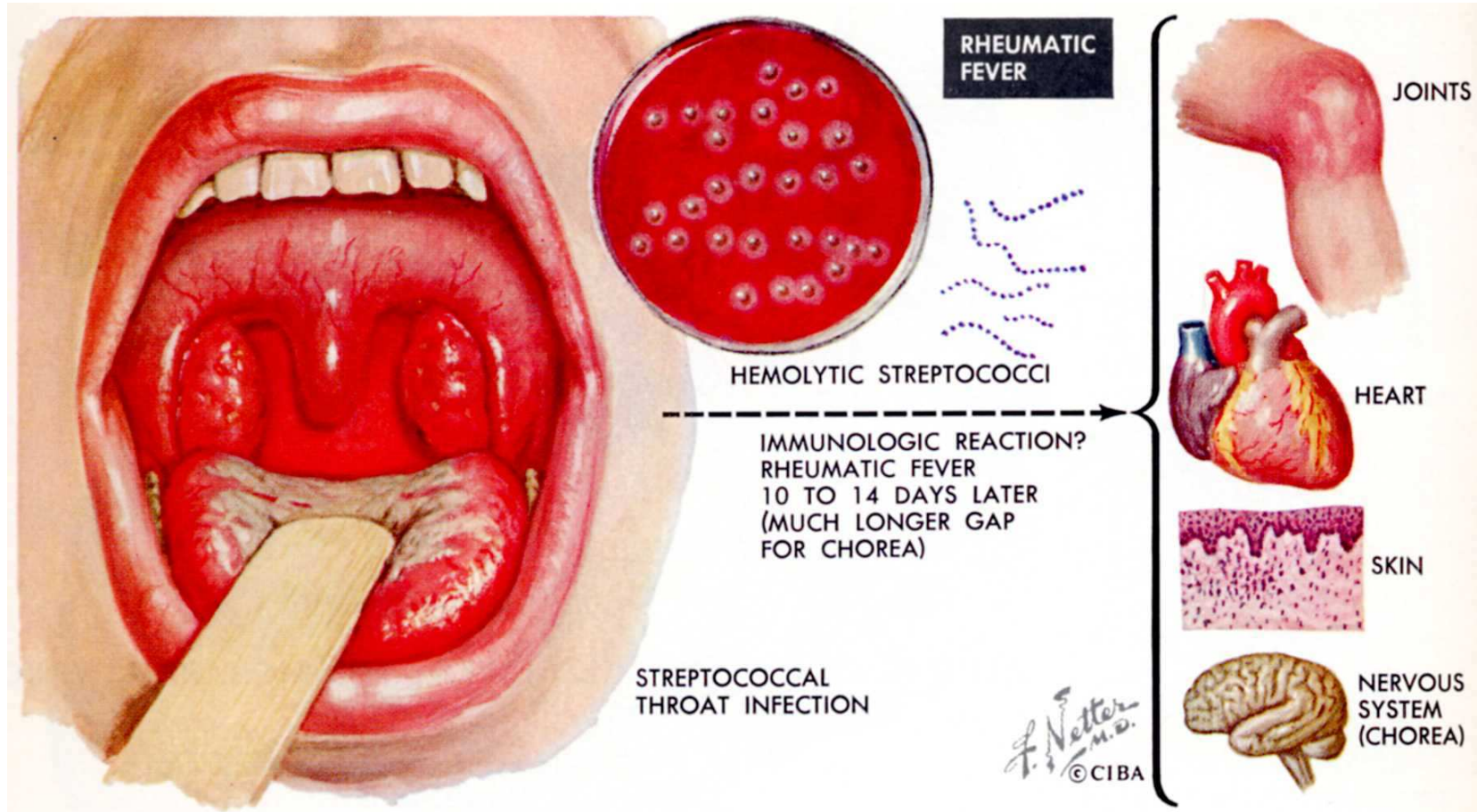
- Presencia de enfermedad hepática
- Quimioterapia
- Uso de Warfarina (anticoagulante)
- Trastornos de la coagulación

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



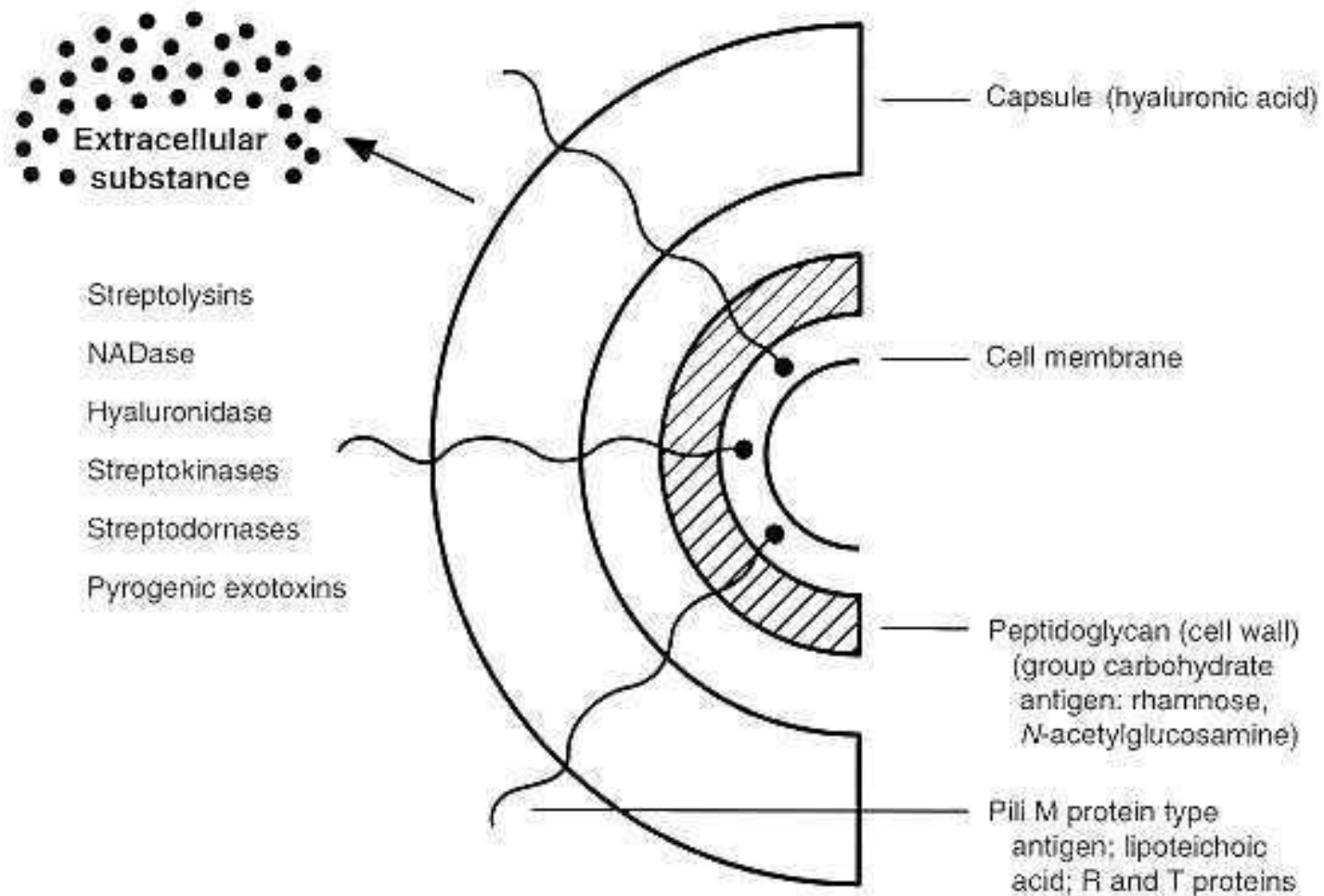
FIEBRE REUMÁTICA

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.

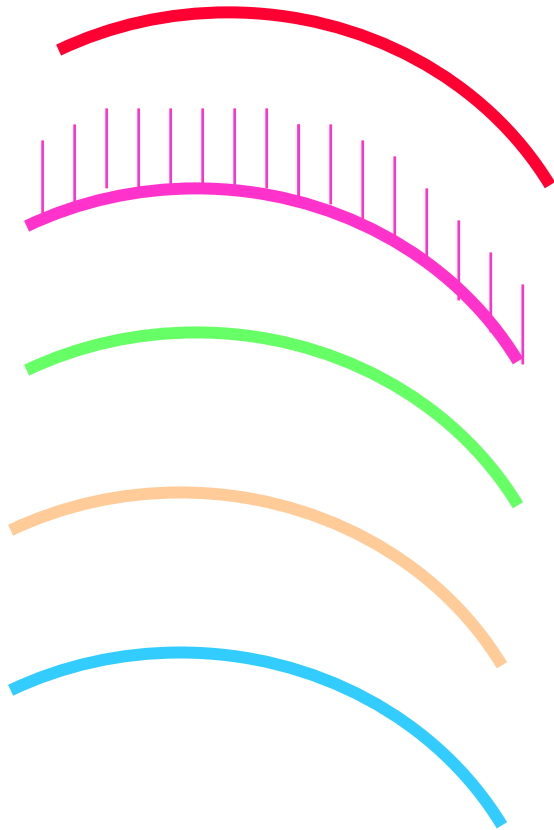
ETIOLOGÍA estreptococo beta hemolítico del grupo A

Estreptococo



ESTREPTOCOCO

Antígenos de pared



cápsula: ac. hialurónico

capa externa: fimbrias

capa media: carbohidrato

capa interna: mucopéptidos

membrana protoplasmática:

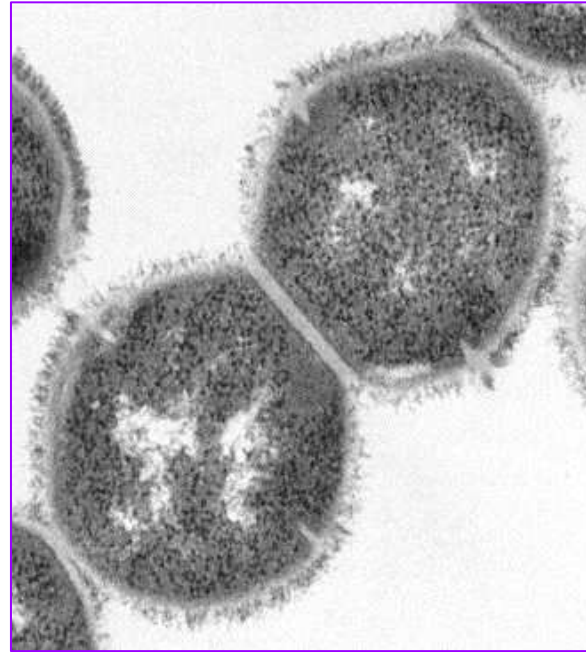
lipoproteínas

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



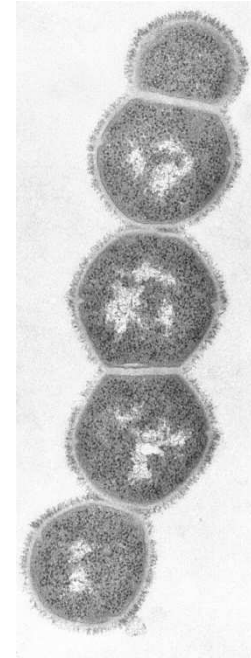
- Proyecciones filamentosas (fimbrias) han sido observadas por microscopía electrónica.
- Estas fimbrias son responsables de unir a las células epiteliales a los Streptococcus mediante la **colonización**.

Proteína M



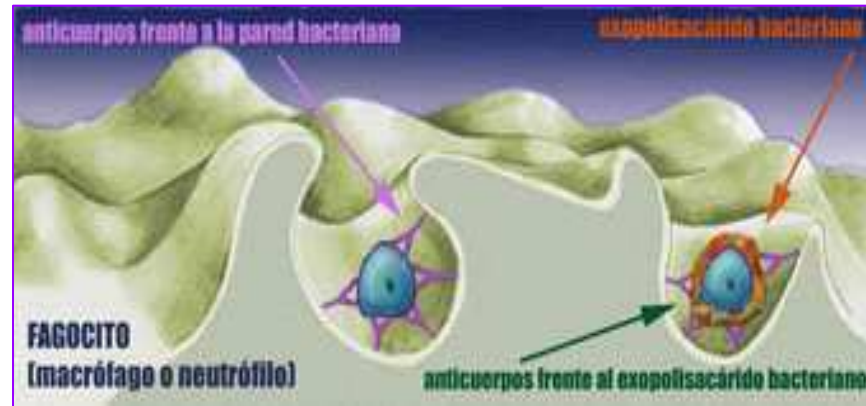
- Esta asociada a las fimbrias, es un importante antígeno de la pared celular, especialmente a los grupos A y C.
- Esta proteína es lábil a la tripsina y otras enzimas proteolíticas, pero puede ocurrir resíntesis.
- El antígeno está relacionado directamente a la virulencia del organismo porque su acción 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
Hemolisinas O	Antigénica, responsable de la β hemólisis, tóxica a las células.
Hemolisina S	No antigénica, tóxica a las células.
Hialuronidasa	Despolimeriza la sustancia fundamental de tejido conectivo para diseminarse por continuidad.
Estreptocinasa	Hidroliza coágulos de fibrina, impide la formación de fibrina en lesiones.
Exotoxinas estreptocócicas pirógenas (SPE)	

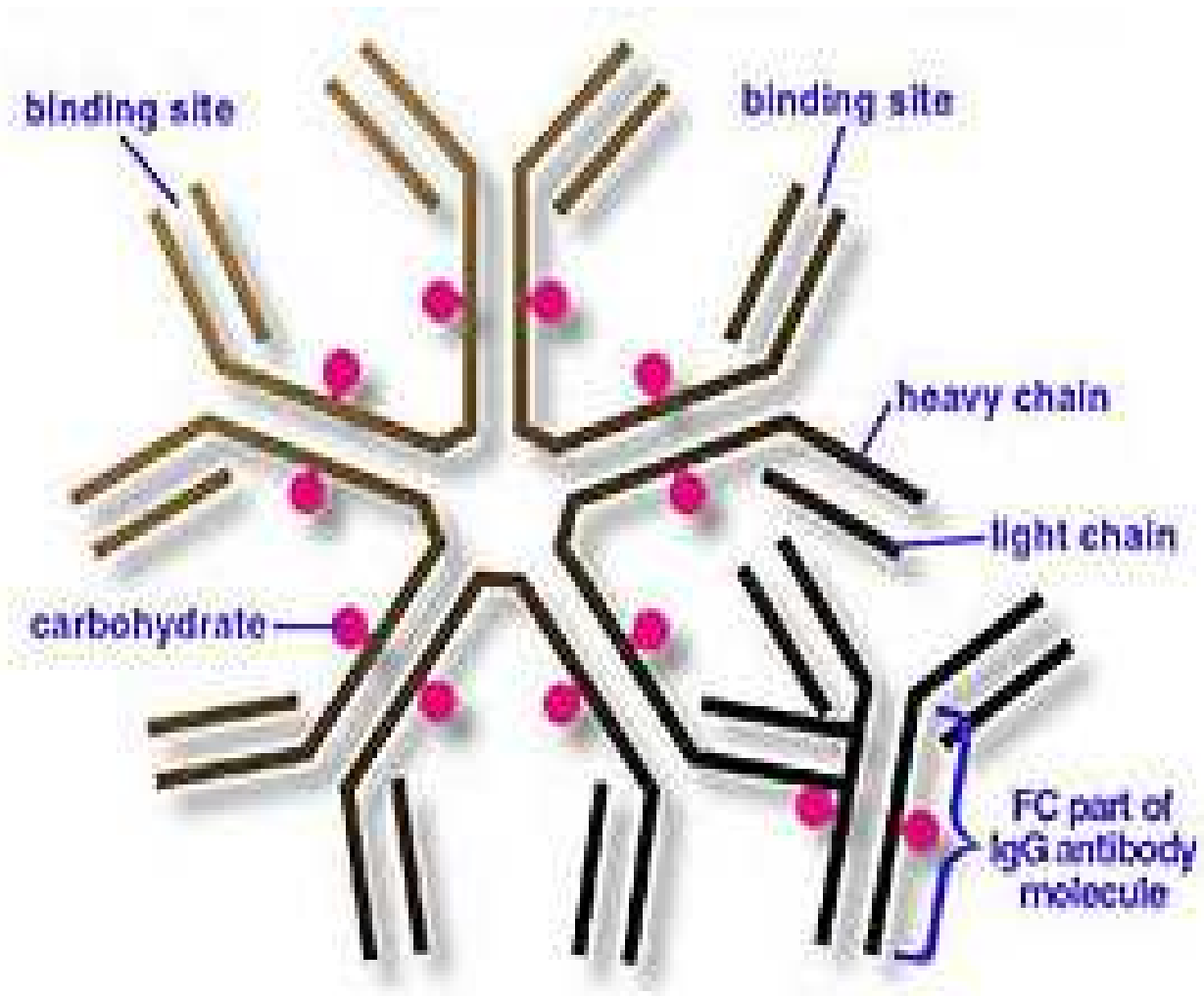
ASO-látex

- 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

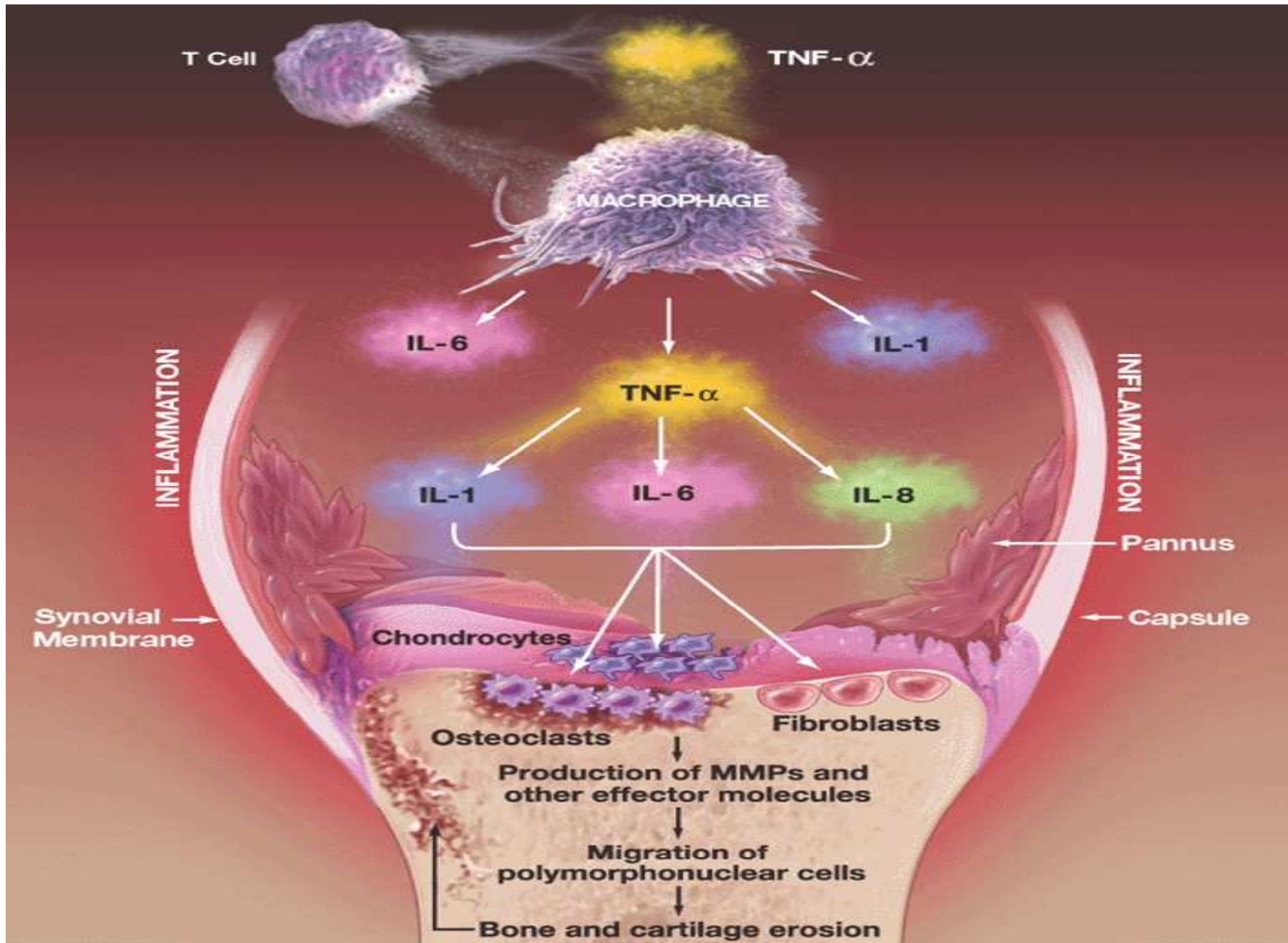
- Los Ac contra el FR son de tipo IgM se detecta en presencia de gamma-globulina humana adsorbida sobre un soporte inerte de látex- poliestireno.
Placa de vidrio fondo negro.
- MUESTRA: suero
Hemólisis y ciertas proteínas (distintas al FR) puede ser causa de resultados erróneos.
- $FR(UI/mL) = \text{título}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



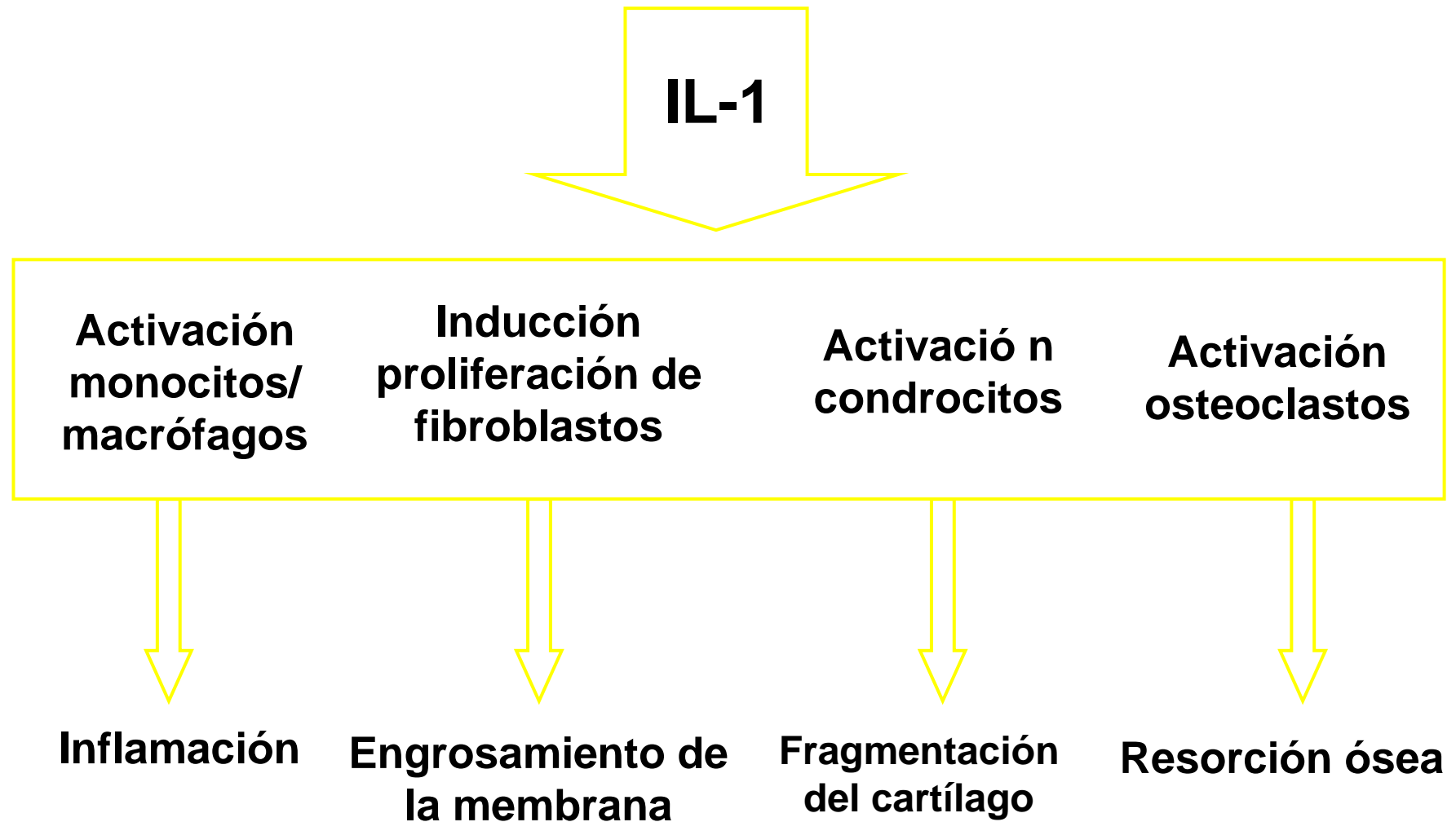
ARTRITIS REUMATOIDE

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

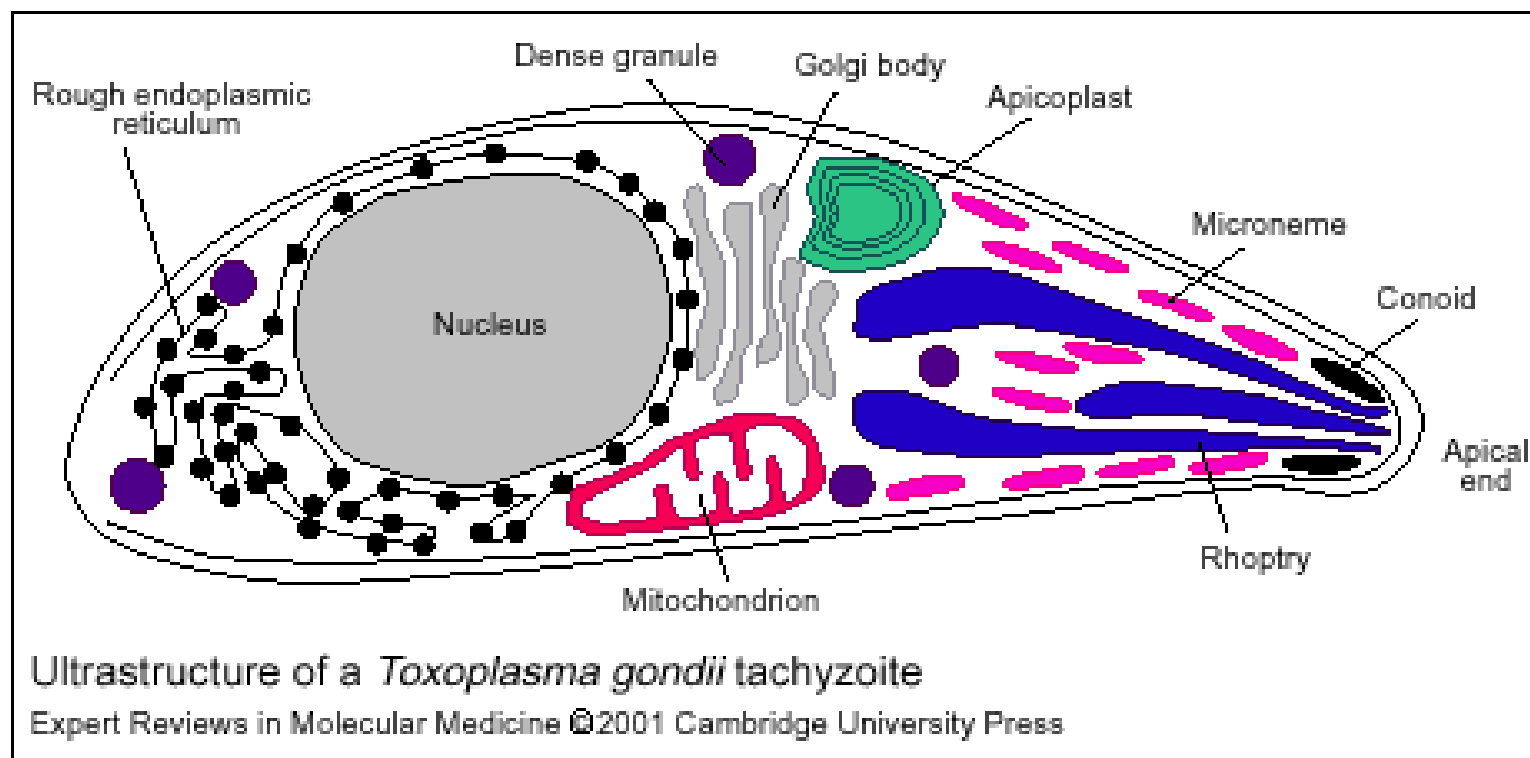


Dedos en cuello de cisne: note las deformaciones en las manos, con hiperextensión a nivel de IFP y flexión en IFD. Clásicas secuelas de AR de larga data.

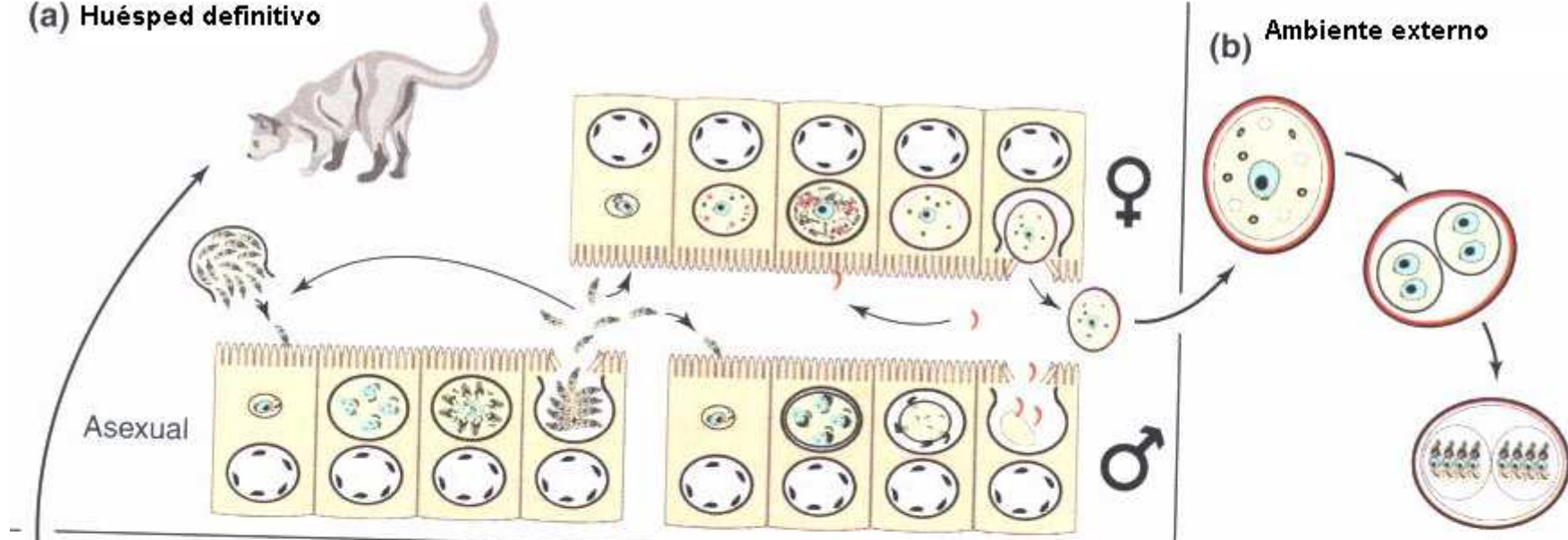
TOXOPLASMA GONDII

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

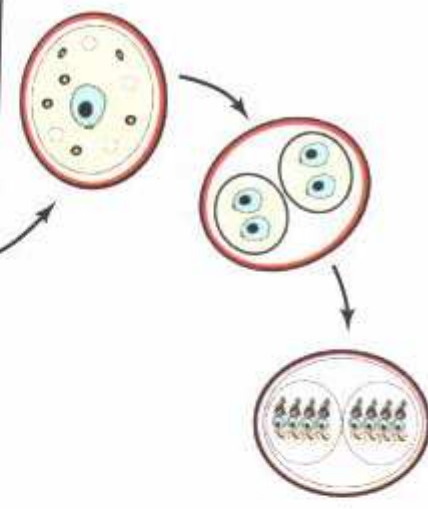
expert reviews
in molecular medicine



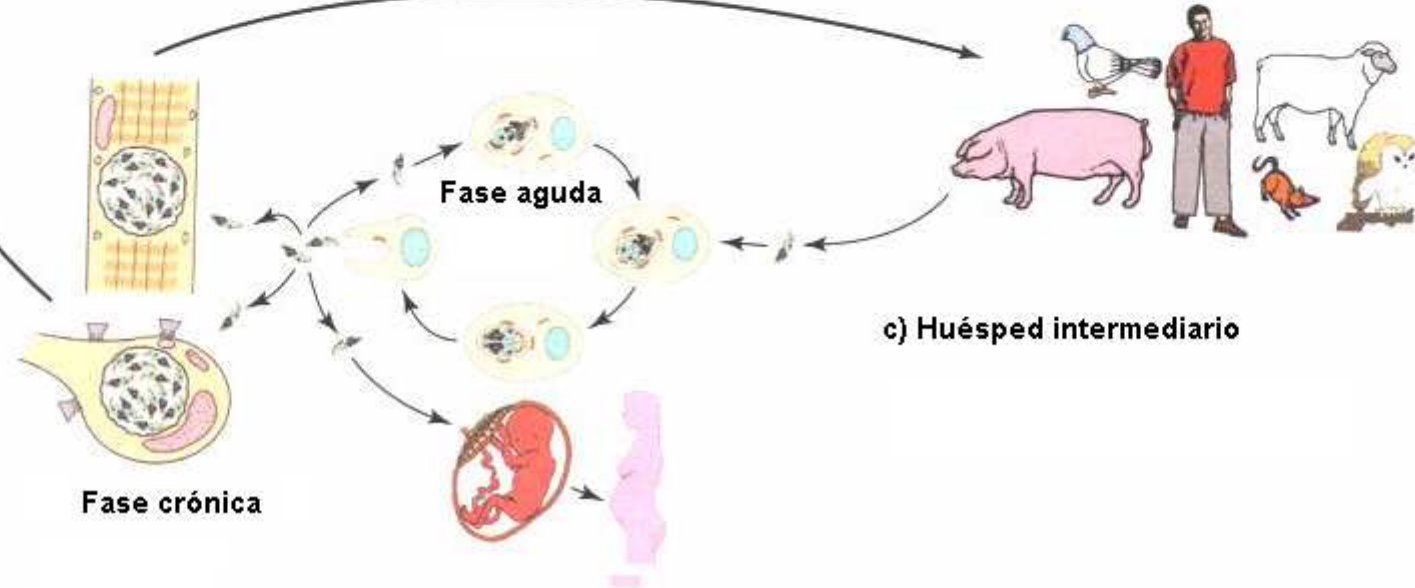
(a) Huésped definitivo



(b) Ambiente externo



c) Huésped intermediario



Fase crónica

Fase aguda

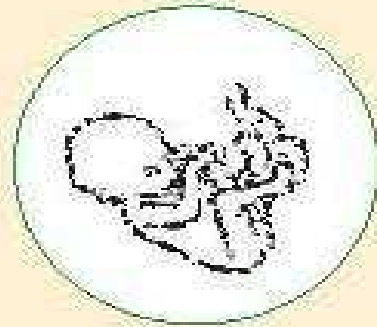
Asexual

Edad de Gestación

Infección Fetal

Secuelas en el Feto

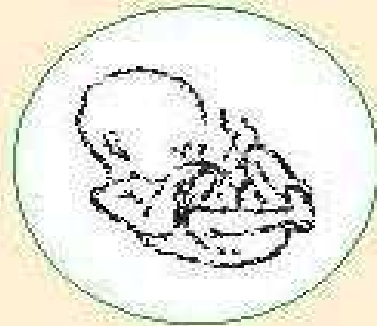
1er Trimestre



9%

MAYOR

2do Trimestre



27%

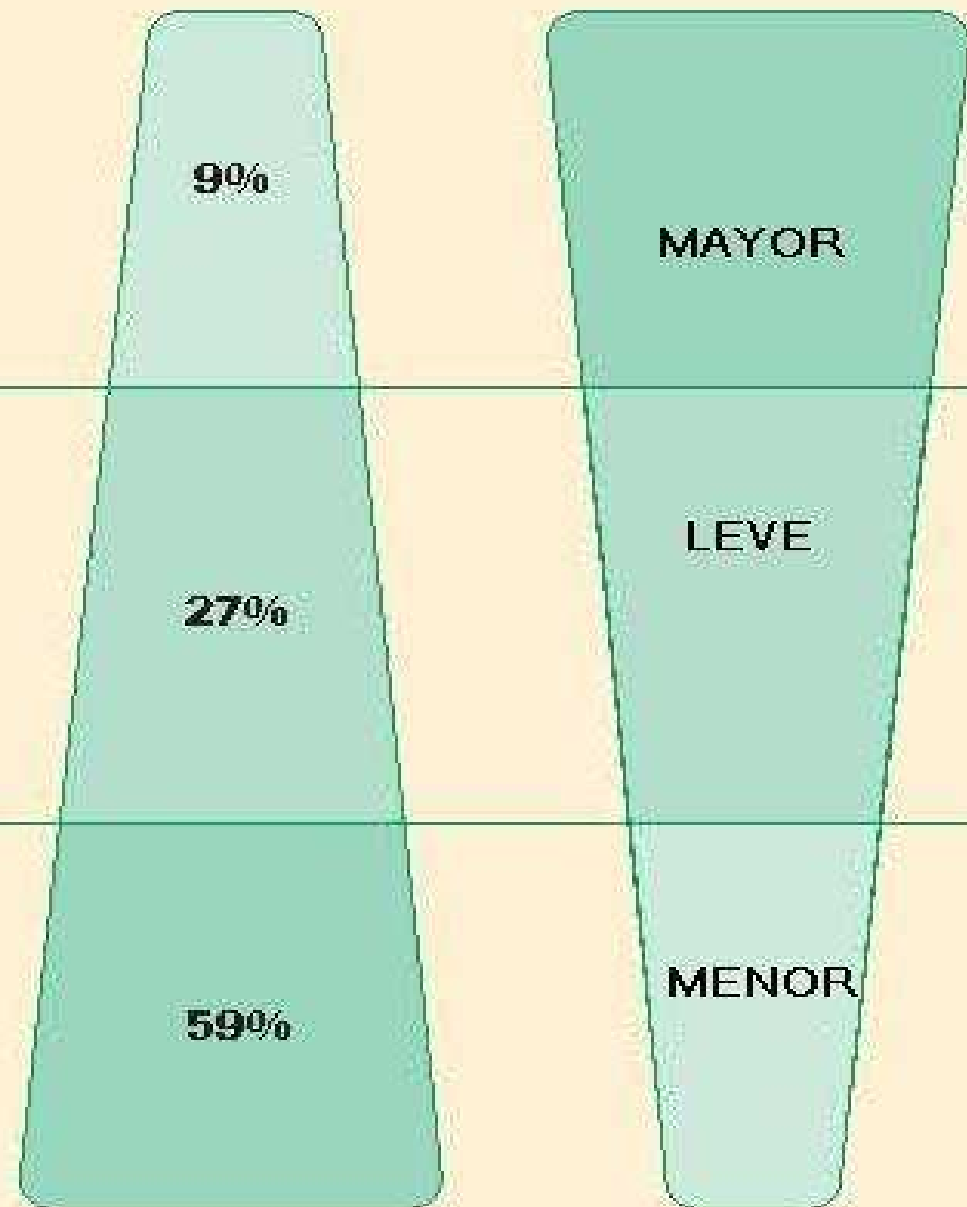
LEVE

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 μ L de buffer + 10 μ L suero

20 μ L de buffer

20 μ L de buffer

20 μ L de buffer

20 μ L de buffer

20 μ L de buffer

20 μ L de buffer



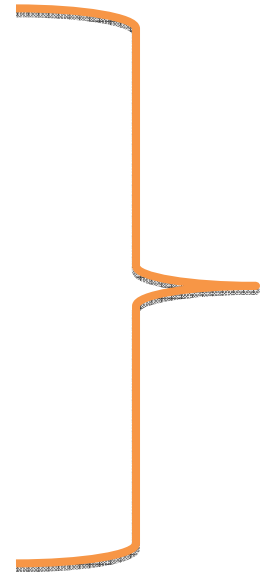
20 μ L



desechar

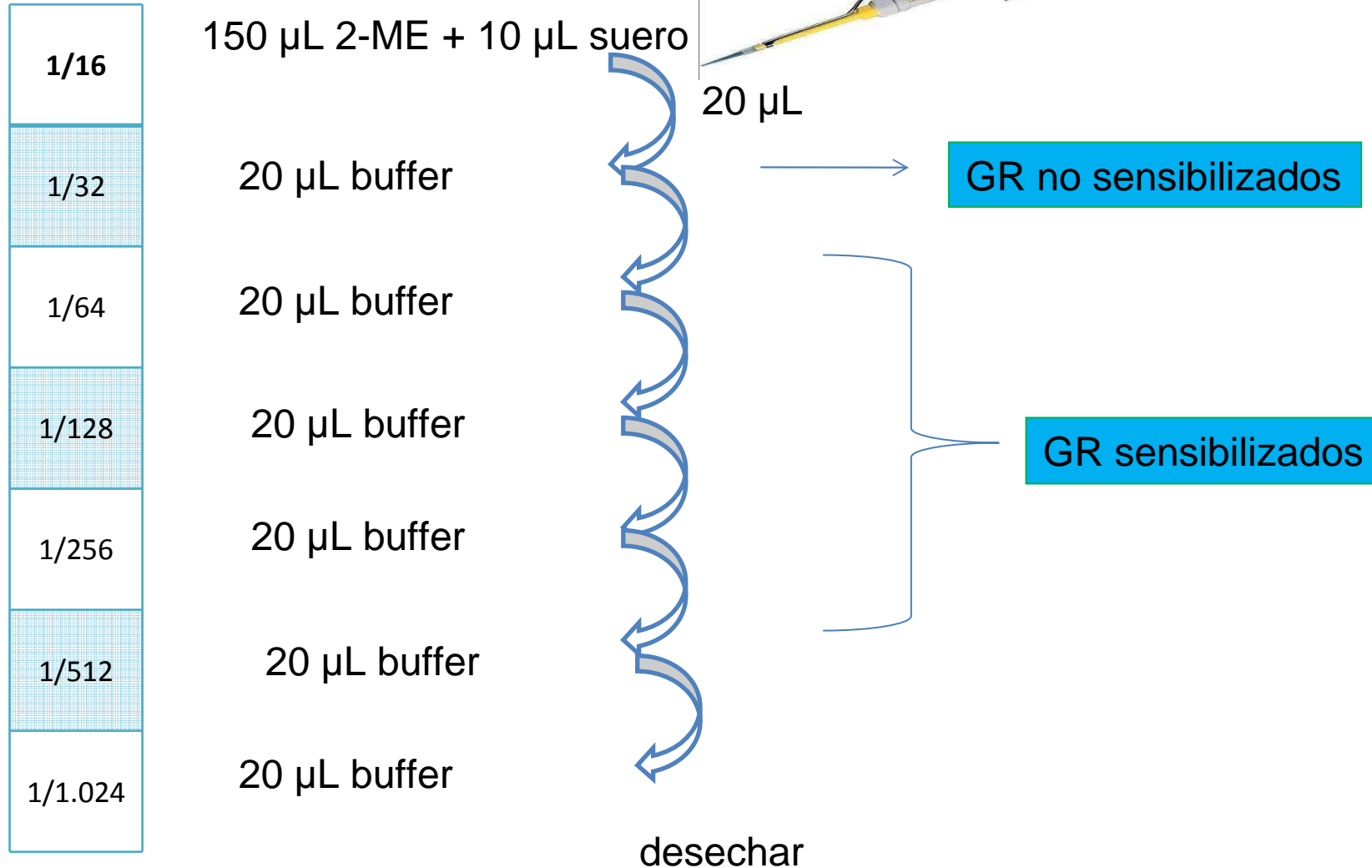


GR no sensibilizados
20 μ L

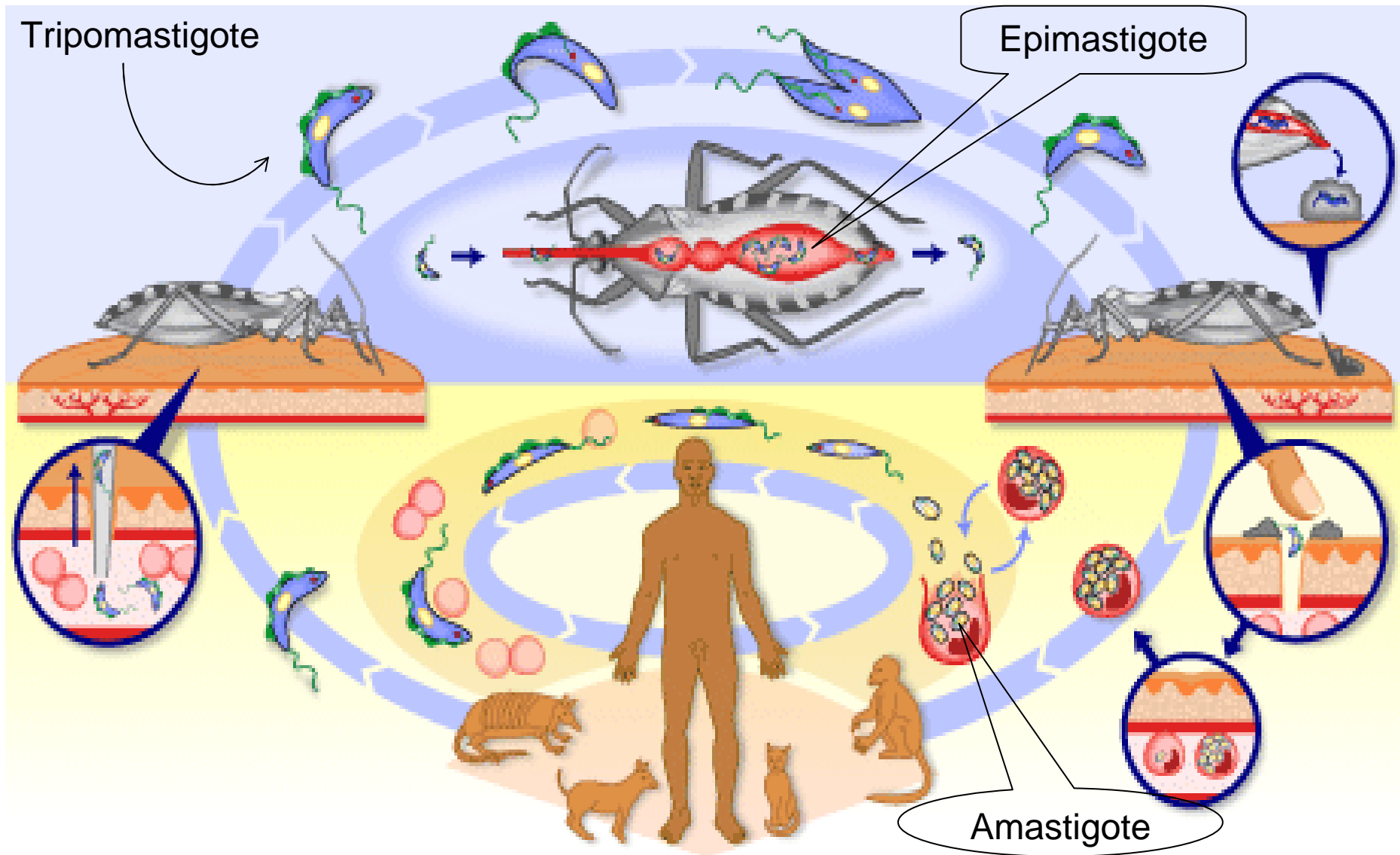


GR sensibilizados
20 μ L

ELIMINAR HETEROFILIA

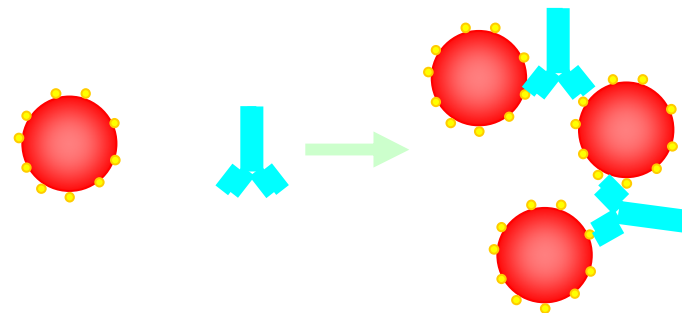


Ciclo Biológico del Tripanosoma cruzi



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



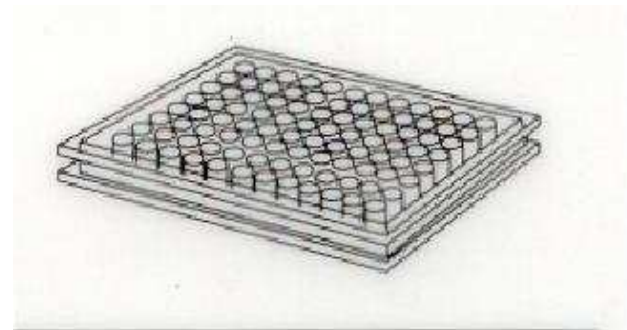
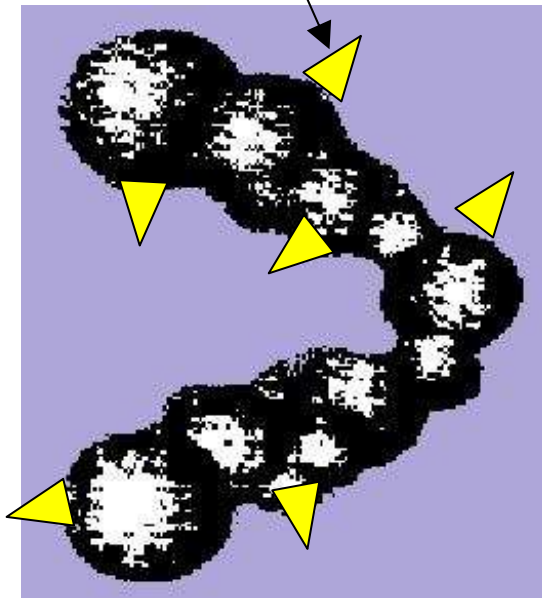
Duplas serológicas

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

Sensibilidad: 99,8%

GR sensibilizados

Ag de *Trypanosoma cruzi*
inactivado



+ Ac Anti-T. cruzi → AGLUTINACIÓN



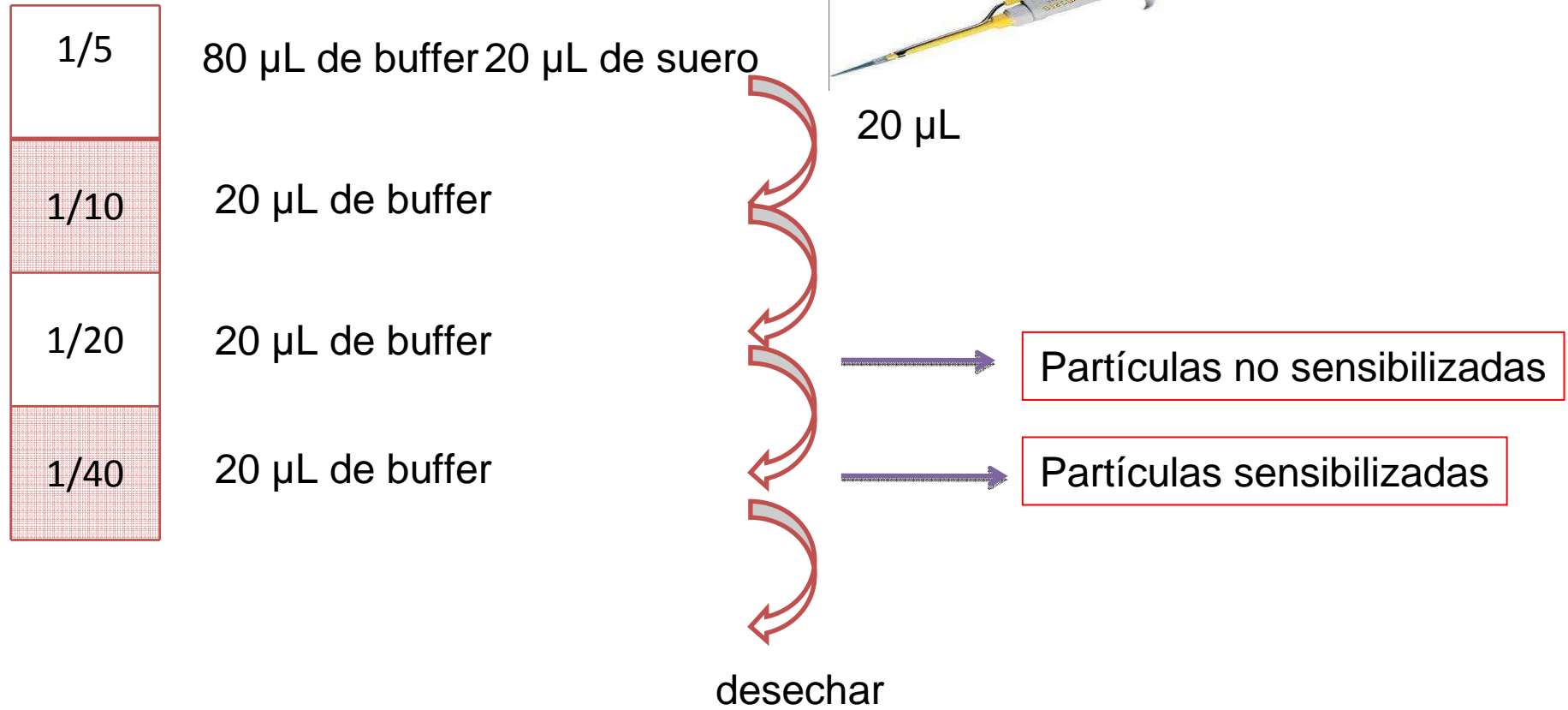
Pruebas treponémicas

- 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 μ 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.***

