



Revisiones

- Síndrome Uremico Hemolítico (SUH)

Pag. 4

El laboratorio práctico

- Consideraciones para la obtención, manipulación, transporte y conservación de la muestra para Hematología

Pag. 7

Novidades y Agenda

- Microalbuminuria, un predictor potente de insuficiencia renal en pacientes con hipertensión.
- Infección crónica por HCV incrementa el riesgo de carcinoma renal
- Real time PCR en el diagnóstico de úlceras de córnea

Pag. 8

Artículos de investigación

Diagnóstico de la infección por el virus de la Hepatitis C (HCV) / PARTE 2

María Claudia Blanco Rivero PhD.
Mónica Torruella PhD.
Centro de Investigación y Biotecnología (CIBIO) Wiener lab.

En el número anterior (Nº 148) se publicó la primera parte de la revisión: Diagnóstico de la infección por el virus de la hepatitis C. En la misma, se hizo referencia al papel significativo que juegan las técnicas ELISA como primer paso en el descarte de una infección por hepatitis C.

En esta, la segunda parte de dicha revisión, se presentan investigaciones científicas que evalúan el desempeño del kit Wiener lab. HCV ELISA 3ª generación.

ESTUDIO A

Evaluación realizada en San Pablo, Brasil, a cargo del Dr. Amadeo Sáez Alquezar.

Materiales y métodos

Se evaluó el desempeño del kit HCV ELISA 3ª generación - Wiener lab (Lote 0904022150), frente a paneles de sueros, y también en paralelo con una rutina de tamizaje serológico de un servicio de hemoterapia. Asimismo, se hizo un análisis de la reproducibilidad del kit, con respecto a los controles negativos y positivos, y a los sueros control interno utilizados. Con los resultados obtenidos se determinó la sensibilidad y la especificidad.

Equipamiento utilizado:

Para realizar los tests fueron utilizados los siguientes equipamientos:
Incubadora: 5.000® (Organon Teknika),
Lavadora: Tecan® (Abbott),
Lectora: Spectra - Tecan® (Abbott).

Reproducibilidad

Fueron realizadas 20 determinaciones del suero control negativo y del suero control

positivo del kit. También se realizaron 20 determinaciones de un suero control interno negativo y 20 determinaciones de un suero control positivo. En todos los casos se efectuó el cálculo de la media (M), desvío estándar (D.E.) y coeficiente de variación (C.V.) (tabla 1).

Evaluación frente a paneles de sueros

Fueron utilizadas 194 muestras de sueros, previamente caracterizadas en cuanto a la reactividad para los tests de uso obligatorio en el tamizaje serológico de donantes de sangre, divididas en 3 paneles de sueros con muestras negativas, heterólogas y positivas.

1)- Panel de sueros negativos para anti-HCV: Fueron analizadas 50 muestras de sueros negativos para todos los parámetros de uso obligatorio en el tamizaje serológico de donantes de sangre.

Con el kit HCV ELISA 3ª generación - Wiener lab. todas las muestras presentaron resultado no reactivo (índice DO/CO < 1,0).

2)- Panel de sueros heterólogos para anti-HCV: Fueron analizadas 100 muestras de sueros negativos para anti-HCV y positivas para algunos de los demás parámetros de uso obligatorio en el tamizaje de donantes de sangre (anti-HIV, anti-HTLV, HBsAg, anti-HBc, anti-T. cruzi y Sífilis).

Tabla 1. Estudio de la reproducibilidad de los controles del kit y de sueros controles internos con HCV ELISA 3ª generación - Wiener lab.

	Media de DO/CO	D.E.	CV (%)
Control negativo	0,21	0,025	11,97
Control positivo	9,10	0,479	5,28
Suero control negativo	0,34	0,048	14,38
Suero control positivo	3,10	0,253	8,24

Artículos de investigación

Diagnóstico de la infección por el virus de la Hepatitis C (HCV)/ PARTE 2

Con el kit HCV ELISA 3ª generación - Wiener lab. una muestra presentó resultado reactivo con índice DO/CO > 1,0 y las demás muestras presentaron resultados no reactivos (índice DO/CO < 1,0).

3)- Panel de sueros positivos para anti-HCV: Fueron analizadas 44 muestras de sueros positivos para anti-HCV.

Con el kit HCV ELISA 3ª generación - Wiener lab. todas las muestras presentaron resultados reactivos (índice DO/CO > 1,0).

Evaluación del kit HCV ELISA 3ª generación - Wiener lab. - en paralelo con una rutina de tamizaje serológico

El kit HCV ELISA 3ª generación - Wiener lab., fue evaluado en paralelo con una rutina de tamizaje serológico de donantes de sangre.

Para la detección de anticuerpos anti-HCV en la rutina de tamizaje fue utilizado el kit Ortho. Se analizaron 1.791 muestras obtenidas en 7 días distintos, para el kit comercial tomado como referencia y para el kit en estudio. Para efecto de interpretación de los resultados de los tests ELISA, se adoptó el criterio de zona gris del CO \pm 10 %. Todas las muestras que inicialmente presentaron reactividad (IR) para cualquiera de los dos kits anti-HCV empleados, fueron repetidas en duplicado. Todas las muestras del tamizaje fueron ensayadas para NAT ARN-HCV en pools de 6 muestras utilizando el equipamiento Cobas S210® (Roche).

Durante esta evaluación en paralelo con la rutina de tamizaje serológico de donantes de sangre, se obtuvieron 15 muestras con resultados inicialmente reactivos (RIR), siendo 4 (0,22 %) con el kit de referencia y 15 (0,84 %) con el kit en estudio. Estos resultados se observan en la tabla 2.

Todas las muestras con RIR fueron repetidas, observándose resultados repetidamente reactivos (RRR) para 4 muestras (0,22 %) con el kit de referencia, y para 10 (0,56 %) con el kit en ensayo. Las 4 muestras con RRR en el kit de referencia también fueron reactivas con el kit en estudio. En la tabla 3 constan las muestras con RRR y los resultados del test NAT ARN-HCV en esas muestras.

Discusión

Estudio de la reproducibilidad:

Los coeficientes de variación (CV) en 20 determinaciones sucesivas de los controles negativo y positivo del kit fueron 11,97 % y 5,28 %, respectivamente. Los CV de los sueros control interno negativo

Tabla 2. Resultados de las muestras inicialmente reactivas con HCV ELISA 3ª generación - Wiener lab.

Muestras nº	Ortho			Wiener lab.		
	DO	CO	DO/CO	DO	CO	DO/CO
34 (17/11/09)	0,012	0,602	0,0	0,193	0,174	1,1
28 (23/11/09) - A	1,446	0,605	2,4	1,622	0,191	8,5
39 (23/11/09) - A	0,014	0,605	0,0	0,557	0,191	2,9
89 (23/11/09) - A	0,002	0,605	0,0	0,277	0,203	1,4
167 (23/11/09) - C	0,003	0,602	0,0	0,214	0,214	1,0
188 (24/11/09)	0,007	0,599	0,0	0,275	0,201	1,4
9 (26/11/09) - A	0,001	0,601	0,0	0,179	0,194	0,9
27 (27/11/09)	3,464	0,603	5,7	3,485	0,183	19,0
75 (27/11/09)	3,744	0,603	6,2	3,512	0,183	19,2
97 (27/11/09)	0,002	0,604	0,0	0,669	0,186	3,6
99 (27/11/09)	0,009	0,604	0,0	0,330	0,186	1,8
179 (27/11/09)	0,009	0,604	0,0	0,247	0,184	1,3
227 (27/11/09)	0,250	0,603	0,4	0,434	0,184	2,4
62 (30/11/09) - A	3,827	0,601	6,4	2,727	0,188	14,5
67 (30/11/09) - A	0,003	0,601	0,0	0,465	0,188	2,5
N (Total) = 15	N = 4(*)			N = 15 (**)		
(*) Total de resultados inicialmente reactivos para el kit Ortho						
(**) Total de resultados inicialmente reactivos para HCV ELISA 3ª generación - Wiener lab.						

Tabla 3. Resultados de las muestras repetidamente reactivas con HCV ELISA 3ª generación - Wiener lab.

Muestras nº	Ortho			Wiener lab.			NAT
	DO	CO	DO/CO	DO	CO	DO/CO	Resultado
34 (17/11/09)	0,012	0,602	0,0	0,230	0,191	1,2	Negativo
28 (23/11/09) - A	1,446	0,605	2,4	1,453	0,186	7,8	Negativo
39 (23/11/09) - A	0,014	0,605	0,0	0,237	0,186	1,3	Negativo
89 (23/11/09) - A	0,002	0,605	0,0	0,243	0,186	1,3	Negativo
27 (27/11/09)	> 4,000	0,619	> 6,5	3,567	0,180	19,8	Positivo
75 (27/11/09)	> 4,000	0,619	> 6,5	3,472	0,180	19,3	Positivo
99 (27/11/09)	0,009	0,604	0,0	0,293	0,180	1,6	Negativo
227 (27/11/09)	0,250	0,603	0,4	0,445	0,180	2,5	Negativo
62 (30/11/09) - A	3,586	0,602	6,0	2,561	0,182	14,1	Positivo
67 (30/11/09) - A	0,003	0,601	0,0	0,472	0,182	2,6	Negativo
N (Total) = 10	N = 4(*)			N = 10 (**)			N = 3 (***)
(*) Total de resultados repetidamente reactivos para el kit Ortho							
(**) Total de resultados repetidamente reactivos para HCV ELISA 3ª generación Wiener lab.							
(***) Total de resultados repetidamente reactivos para NAT ARN-HCV							

y positivo fueron 14,38 % y 8,24 %, respectivamente.

Así, los coeficientes de variación observados son considerados aceptables, destacando que para los controles positivos se nota un bajo índice de dispersión.

Evaluación frente a paneles de sueros:

Todos los resultados obtenidos con el panel de muestras negativas fueron no reactivas con índice DO/CO < 1. Con el panel de muestras heterólogas, una muestra

presentó resultado reactivo, con índice DO/CO > 1,0. Las demás muestras presentaron resultados no reactivos, índice DO/CO < 1,0. Todos los resultados obtenidos con el panel de muestras positivas fueron reactivos, con índice de DO/CO > 1,0.

Evaluación en paralelo a una rutina de tamizaje serológico:

Con la utilización del kit HCV ELISA 3ª generación - Wiener lab., en un total de 1.791 muestras de un tamizaje serológico

Diagnóstico de la infección por el virus de la Hepatitis C (HCV)/ PARTE 2

Tabla 4. Sensibilidad y especificidad para HCV ELISA 3ª generación – Wiener lab. Resultados con un nivel de confianza de 95,0 % (IC: intervalo de confianza)

Prueba diagnóstica	Prueba de referencia		
	Enfermos	Sanos	Total
Positivo	3	6	9
Negativo	0	1788	1788
Total	3	1794	1797

	Valor (%)	IC (95%)
Sensibilidad (%)	100,00	83,33 - 100,00
Especificidad (%)	99,67	99,37 - 99,96
Valor predictivo + (%)	33,33	0,00 - 69,69
Valor predictivo - (%)	100,00	99,97 - 100,00

gico se observó la presencia de 15 (0,84 %) RIR y de 10 (0,56 %) RRR. Del total de muestras con RRR (10), sólo 3 fueron confirmadas como positivas por NAT. Una de las muestras fue repetidamente reactiva por los dos kits anti-HCV utilizados, pero presentó resultado negativo por NAT. En este caso existen dos maneras de interpretar el resultado: puede tratarse de un resultado falso positivo para los dos kits, o bien puede corresponder a un individuo que tuvo contacto con el virus de la hepatitis C y que evolucionó para la cura, persistiendo el anti-HCV. Por este motivo, el resultado de esa muestra se excluyó para el cálculo de la especificidad. De esta forma, se puede considerar que 6 muestras (0,34 %) correspondieron a resultados falso-positivos (RFP) por el kit en estudio. Teniendo en cuenta el total de muestras verdaderamente positivas (N = 3), verdaderamente negativas (N = 1.788) y el número de RFP (6) por el kit en evaluación, se calculó la sensibilidad y la especificidad. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 4.

Conclusiones

El kit HCV ELISA 3ª generación - Wiener lab. mostró un desempeño apropiado para uso en procedimientos diagnósticos y en tamizaje serológico en bancos de sangre.

ESTUDIO B

Evaluación realizada en el Laboratorio de Diagnóstico Viroológico, Área Virología. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. U.N.R. A cargo del Dr. Miguel A. Taborda y con la colaboración de S. Marchiano, F. Faciutto y A. Marina.

Materiales y métodos

Se evaluó el desempeño del kit HCV ELISA 3ª generación - Wiener lab. (Lote 0810016740), frente a paneles de sueros negativos y positivos. Se utilizó como método de referencia el HCV ELISA de DiaSorin. Los reactivos fueron procesados según el manual de instrucción que acompaña al kit respectivo.

Equipamiento utilizado:

Las determinaciones se realizaron totalmente en forma manual. Para las lecturas se utilizó un lector de placa vertical MRX® (Dynatech Laboratories).

Paneles de sueros:

Para la evaluación se utilizó un panel de sueros negativos y positivos. El panel de sueros negativos estuvo compuesto por muestras de los bancos de sangre que pertenecen a la Red de Bancos de Sangre

(Agrupación de Bancos de Sangre Privados de Rosario, Santa Fe, Argentina). Estos sueros son estudiados por distintas metodologías para la detección de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C. Posteriormente se estudia la presencia del ARN-HCV por técnicas de biología molecular. Para el estudio de especificidad fueron utilizadas muestras del Laboratorio SEMIR con reactividad para algún marcador analizado y serología no reactiva para anticuerpos anti-HCV. Además fueron incluidas muestras de centros de rehabilitación para droga-dependientes. El panel de muestras positivas incluyó muestras de pacientes protocolizados para el tratamiento de HCV por el Servicio de Gastroenterología del Hospital Provincial del Centenario.

Resultados

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 5.

- Sensibilidad: 100 %**
- Especificidad: 99,62 %**
- Valor Predictivo Positivo: 96,7 %**
- Valor Predictivo Negativo: 100 %**

Conclusiones

Los resultados obtenidos permiten concluir que el equipo ensayado, HCV ELISA 3ª generación, de Wiener lab. dio una sensibilidad y especificidad adecuada para su uso en el tamizaje de banco de sangre y para la elección del mismo en el algoritmo diagnóstico de la infección por HCV. Un estudio multicéntrico permitiría evaluar la performance de los equipos variando instrumental, operador, población de donantes, para caracterizar aún más este reactivo. El procesamiento manual y la adaptación a autoanalizadores son un argumento a favor para la elección de estos equipos debido a la tendencia a la centralización de muestras de donantes para posibilitar la aplicación de las técnicas de Biología Molecular a las que hicimos referencia en la introducción, como así también su uso en los laboratorios de diagnóstico virológicos.

AGRADECIMIENTOS

En el presente trabajo se agradece la colaboración de: Dr. Amadeo Sáez Alquezar, responsable de la evaluación realizada en San Pablo, Brasil. Dr. Miguel Taborda, responsable de la evaluación realizada en Rosario, Argentina. ■

Tabla 5. Resumen de los resultados obtenidos con HCV ELISA 3ª generación.

Prueba diagnóstica	Prueba de referencia		
	Enfermos	Sanos	Total
Positivo	30	1	31
Negativo	0	261	261
Total	30	262	292

Síndrome Uremico Hemolítico (SUH)

Bioq. Ma. Gabriela Alegre
Dpto. Marketing, Wiener lab. Group

Definición

El síndrome urémico hemolítico es un cuadro caracterizado por la combinación de:

- Insuficiencia renal aguda
- Trombocitopenia
- Anemia hemolítica microangiopática

Resulta como la consecuencia de una microangiopatía de localización renal predominante, pero que puede afectar también otros parénquimas como sistema nervioso central y/o gastrointestinal.

El hecho de que el presente trastorno sea un síndrome, y no una enfermedad, explica que existan múltiples causas para el mismo. En la infancia, el listado etiológico del SUH se reduce a idiopático, postinfeccioso y hereditario. Aunque la mayoría de los casos están causados, por cepas de *Escherichia coli* productoras de verotoxinas (STEC) *Escherichia coli* Enterohemorrágicas), siendo la más frecuente la del serotipo O157:H7.

Reseña histórica

El SUH fue descrito por primera vez por V. Gasser en Suiza, en 1955. Posteriormente, se detectaron casos en países de Europa, América del Norte, Sudamérica, Sudáfrica, Australia, India y Japón. En Argentina, los primeros casos fueron estudiados por el Dr. Carlos Gianantonio a partir de 1964. En la actualidad la Argentina presenta el registro más alto de SUH en todo el mundo, tratándose de una enfermedad endoepidémica.

Epidemiología- Incidencia

La incidencia global se estima en 2,1 casos cada 100.000 personas por año, con un pico en menores de 5 años (6,1/100.000/año) siendo menor el riesgo en personas de 50 a 59 años (0,5/100.000/año).

Argentina presenta el registro más alto de SUH en todo el mundo, con aproximadamente 420 casos nuevos declarados anualmente y una incidencia de 12,2/100 000 niños menores de 5 años de edad. En la ciudad de Buenos Aires se determinó una incidencia de 22/100 000 niños menores de 4 años.

La infección por *Escherichia coli* O157:H7

es más común en los meses cálidos del verano, siendo 3 días la media entre la exposición a la toxina de la *Escherichia coli* y la enfermedad.

Afecta principalmente a niños entre 6 meses y los 5 años de edad. Generalmente, los pacientes son niños eutróficos, de clase media, con buenas condiciones sanitarias y ambientales, de nivel socioeconómico aceptable.

La enfermedad constituye la primera causa de insuficiencia renal aguda en la edad pediátrica y la segunda de insuficiencia renal crónica. El SUH es responsable del 20% de los trasplantes renales en niños y adolescentes.

En estudios realizados en la década del 90, se encontraron evidencias de infección por STEC en 59% de los casos de SUH, y *E. coli* O157 fue el serogrupo prevalente. En el 2000 (Resolución N° 346/00), el Ministerio de Salud de Argentina estableció la notificación obligatoria al Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SI. NA.V.E.), con modalidad semanal e individualizada en la Planilla C2. *

En el 2005, 22 Unidades Centinela para la vigilancia del SUH comenzaron a funcionar en las jurisdicciones con las tasas de incidencia más elevadas.

En la Fig. 1 se presenta el número de casos notificados al Servicio Fisiopatología del INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán" y al Comité de Nefrología de la Sociedad Argentina de Pediatría, las tasas estimadas de notificación, y la mortalidad, correspondiente al período 1995- 2004. La tasa

de notificación para el año 2005 fue de 13,9 casos por cada 100.000 niños menores de 5 años, valor 10 veces superior al notificado por los países industrializados. La letalidad en la fase aguda fue del 3,4%.

Clasificación

Esta enfermedad sindrómica puede presentar dos formas (ver Tabla 1):

- ✓ La forma típica (D+): > 90% casos

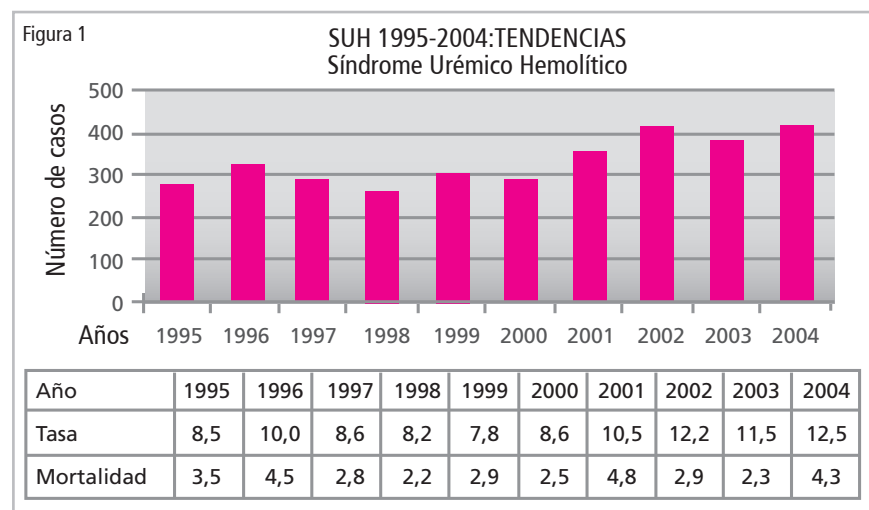
De etiología infecciosa y de características endemoepidémicas, que está precedida por un período prodrómico con diarrea, generalmente sanguinolenta, y que puede presentar además fiebre, vómitos y dolor abdominal.

Se considera a la infección por *Escherichia coli* Enterohemorrágica (STEC) como la principal etiología de SUH. Esto se debe a que regiones endoepidémicas se aísla con mayor frecuencia la *Escherichia coli* O157:H7.

- ✓ La forma atípica (D-): esporádica

Puede ser familiar (herencia autosómica recesiva y formas dominantes) o desencadenada por distintos cuadros como neoplasias, hipertensión arterial, rechazo de trasplante renal, uso de anticonceptivos orales, drogas, post parto, etc. Por lo general no cursa con diarrea.

En adelante nos referiremos al síndrome urémico hemolítico típico (SUH D+)



* Los datos para la Vigilancia del SUH se originan mediante cuatro subsistemas que reportan al Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SI.Na.V.E.): la notificación en la Planilla C2 (2000), las Unidades Centinelas (2005), el SIVILA (2007) y la red regional PulseNet. Vigilancia epidemiológica del Síndrome Urémico Hemolítico: atrapados en la lógica instrumental. Marcela Belardo. CONICET, IIGG, UBA

Transmisión

Después de la aparición del SUH relacionado a *Escherichia coli*, la toxina puede ser eliminada en las heces por varias semanas luego de la resolución de los síntomas. La *E. coli* O157:H7 coloniza el intestino sano del ganado bovino. El microorganismo es transmitido a los seres humanos a través de los alimentos, el agua y directamente de persona a persona, por la ruta fecal-oral. La mayoría de las epidemias por alimentos contaminados han sido atribuidas a derivados de productos bovinos. Figura 2. La hamburguesa con deficiente cocción es el vector que favorece más de la mitad de los casos epidémicos reportados.

Generalidades de SUH por *E. Coli* O157:H7

Se ha reconocido a *Escherichia coli* productor de verotoxina o toxina Shiga (STEC), como agente causal de la forma postentérica de SUH.

E. coli O157:H7, identificado por primera vez como patógeno humano en 1982, es el serotipo prevalente asociado a grandes brotes y casos esporádicos de colitis hemorrágica (CH) y SUH.

E. coli O157:H7 es el prototipo de un grupo de más de 150 serotipos de *E. coli* (O26:H11; O103:H2; O111:NM; O113:H21; O145:NM; entre otros) que comparten el mismo potencial patognomónico. Los serotipos de STEC asociados a enfermedades severas en el hombre pertenecen a la categoría de *E. coli* enterohemorrágico (EHEC).

EHEC produce potentes citotoxinas llamadas toxinas Shiga (Stx).

La habilidad de las cepas STEC para causar enfermedad está relacionada con su capacidad para secretar Stx1, Stx2 y sus variantes, responsables del daño del endo-

Tabla 1

Diferencias entre el síndrome urémico hemolítico típico (SUH D+) y el SUH atípico (SUH D-)

Características	SUH D+	SUH D-
Antecedentes patológicos familiares	No	Si
Edad	< 5 años	>5 años
Variedad estacional	Sí	No
Pródromos	Diarrea	No diarrea
Hipertensión endocraneana	Moderada	Severa
Complicaciones	Poco comunes	Comunes
Histología	Microangiopatía glomerular	Arteriopatía
Recurrencia	Rara	Común
Frecuencia	90% de los casos	10% de los casos
Evolución	Buena	Mala

telio vascular.

Otro factor de virulencia es una proteína de membrana externa llamada intimina que está asociada con la adherencia íntima de la bacteria a la célula epitelial, la iniciación de las señales de transducción, y la desorganización de las microvellosidades con la formación de la lesión AE (del inglés, attachingand-effacing).

Fisiopatología

La patogénesis del SUH es compleja, y la enfermedad se atribuye en especial al efecto citotóxico por inhibición de la síntesis proteica que producen las toxinas proteicas tipo Shiga (Stxs). Luego de ingresar a la circulación la toxina, se une al receptor Gb3 de las células endoteliales (principalmente en el riñón) lo que provoca inicialmente edema celular y posteriormente la liberación de citoquinas inflamatorias.

En los vasos sanguíneos se produce ulceración endotelial, con depósito de fibrina, las plaquetas se activan y adhieren a di-

cho sitio, generando trombosis y alteración de la función del órgano blanco. Principalmente se afectan intestino, riñón y sistema nervioso central. Se observa caída del filtrado glomerular debido a la microtrombosis, llevando a la retención de urea, creatinina, ácido úrico y fosfatos.

Debido al consumo de plaquetas se produce trombocitopenia, con aparición de hemorragias espontáneas. La interacción endotelial plaquetaria y el reclutamiento de leucocitos polimorfonucleares agrava aún más el daño endotelial.

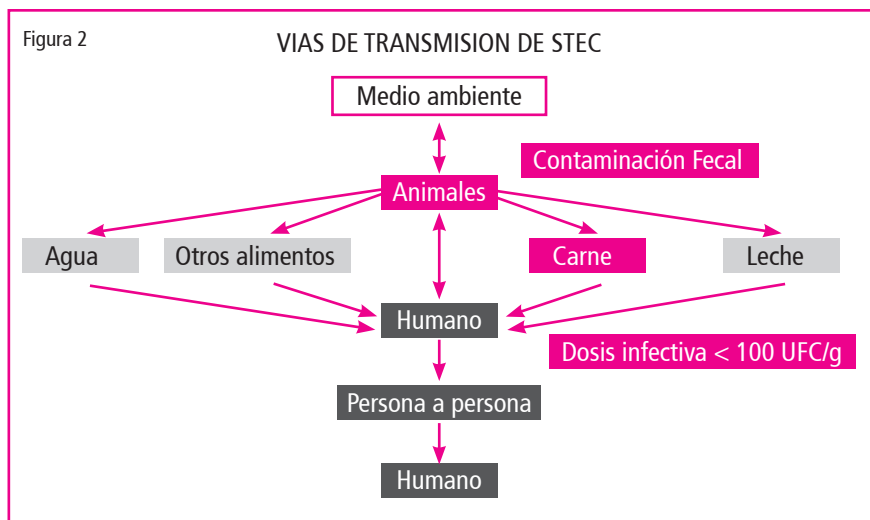
Se produce anemia hemolítica debido a la destrucción de los glóbulos rojos en la sangre al circular por los vasos dañados.

Clínica del SUH

La manifestación prodrómica es en un 90% gastrointestinal, los síntomas son generalmente vagos, como dolor abdominal, febrícula, vómitos y diarrea (sanguinolenta si es producida por las enterotoxinas shigella-like). El pródromo puede ser respiratorio y casi siempre se da en niños mayores (generalmente mayores de 5 años). Se sigue de un intervalo libre que no es constante y oscila entre uno y quince días.

La fase aguda se caracteriza por la aparición brusca de anemia hemolítica, trombopenia y fracaso renal agudo.

Anemia hemolítica: la duración es variable, de días a meses; presentan palidez intensa de piel y mucosas con afectación del estado general, debilidad intensa y fiebre con frecuencia. La intensidad de la anemia no se correlaciona con la gravedad ni el pronóstico de la enfermedad.



Trombopenia: la trombopenia suele durar unos siete días, indicando la normalización de la cifra de plaquetas el inicio de la recuperación.

IRA: Más de un 50% de los casos debutan con insuficiencia renal oligúrica u oligoanúrica. Estos casos, también pueden presentar HTA.

Las formas con diuresis conservada se dan en niños mayores, con pródromo respiratorio. Se presentan como una glomerulopatía con debut agudo, proteinuria que puede ser en rango nefrótico e HTA severa de difícil control con complicaciones cardiopulmonares o cerebrales.

Otras manifestaciones clínicas debidas a la afectación multisistémica son las siguientes: hepatitis aguda con ictericia en un 15-30% de los casos y hepatomegalia en el 13-50%. La afectación del sistema nervioso central es bastante frecuente, variando desde sutiles anomalías, como irritabilidad, letargia, alteraciones de la personalidad a alteraciones severas, como convulsiones, ceguera cortical, hemiparesias, posturas de descerebración y coma. Las alteraciones neurológicas se deben principalmente a los trastornos hidroelectrolíticos.

La fase crónica no está presente en todos los casos.

Pueden existir secuelas leves como HTA moderada y/o proteinuria en rango no nefrótico de escasa duración, insuficiencia renal crónica con HTA severa, proteinuria persistente e insuficiencia renal crónica. En otros casos persisten las secuelas neurológicas.

La mortalidad oscila de un 2 a un 5%.

Diagnóstico

Interrogatorio: habitualmente la historia de los pacientes con S.U.H está muy bien delimitada.

Del interrogatorio cuidadoso surge la orientación diagnóstica.

Laboratorio: El diagnóstico se corrobora con elementos de laboratorio, pero fundamentalmente con el hallazgo de un frotis de sangre periférica típico.

Alteraciones hematológicas: la presencia de anemia hemolítica es constante, con marcada anisocitosis y poiquilocitos con fragmentación eritrocitaria (aparecen como esquistocitos). Algunos esquistoci-

tos adoptan la forma de cascos (Helmet cells). Algunos glóbulos rojos adoptan la forma de esferocitos.

Las concentraciones de hemoglobina pueden caer a valores de 4-5 g/dl.

La respuesta reticulocitaria es precoz y oscila entre el 1 al 20 %.

Existe una disminución o desaparición de haptoglobina, lo que evidencia que se trata de un proceso de hemólisis intravascular.

La leucocitosis es un signo frecuente (>15000/mm³).

Las plaquetas casi siempre descienden en la primera semana a cifras inferiores a 100.000/mm³.

Los estudios de la coagulación muestran actividad normal o alta del factor VIII, factor V, fibrinógeno, monómeros de la fibrina y productos de degradación del fibrinógeno. La antitrombina III usual, es normal, pero puede estar francamente descendida.

Alteraciones Renales: Se produce un aumento progresivo de las cifras de creatinina (> 1,0 mg/dl menor de 13 años o >1,5 mg/dl de 13 años o más, o >50% respecto al valor basal) y urea, así como alteraciones hidroelectrolíticas y del equilibrio ácido-básico derivadas de la insuficiencia renal.

En el sedimento urinario se pueden encontrar hematuria (microhematuria) y proteinuria (1-2g/dl). Pueden encontrarse: cilindros granulosos, hemáticos y leucocitarios.

Los pacientes que presentan HTA pueden tener aumento de la actividad de renina plasmática.

Otros hallazgos de laboratorio: La LDH esta aumentada como expresión de hemólisis, aunque también de sufrimiento isquémico y necrosis tisular (esta última parece ser la causa principal). Su persistencia indica la continuidad de la hemólisis.

Bilirrubina indirecta: aumentada, no suele superar 2-3 mg/dl.

Puede existir hiperuricemia, hiperlipemia y aumento de las transaminasas con hipoalbuminemia.

Puede observarse descenso de la fracción C3 del complemento.

Las pruebas complementarias se caracterizan por test de Coombs directo e indirecto negativos.

La biopsia rara vez está indicada (insuficiencia renal mayor a 2 semanas), y se contraindica en pacientes plaquetopéni-

cos.

Heces fecales: En la fase aguda se puede aislar el patógeno y determinar la enterotoxina (Stx libre).

Criterios diagnósticos para establecer la asociación entre enfermedad e infección por STEC

- 1- Aislamiento y caracterización del patógeno en materia fecal
- 2- Detección de Stx libre en materia fecal (StxMF)
- 3- Detección de anticuerpos anti-Stx en suero

Los puntos 2 y 3 son realizados por los Centros de Referencia, por técnicas de neutralización del efecto citotóxico en células Vero, entre otras pruebas.

1- Aislamiento y caracterización de STEC en materia fecal:

E. coli O157:H7 es el serotipo que hasta ahora ha demostrado más evidencia de incidencia y es, por tener características fenotípicas particulares, el más sencillo de identificar en un laboratorio sin mucha complejidad. Pero no se debe olvidar que otros serotipos pueden estar involucrados y se debe considerar al hacer el coprocultivo.

En un medio diferencial (SMAC) se siembra la muestra de MF, tras incubación las colonias sospechosas son reconfirmadas con pruebas bioquímicas estándares. Luego, con una suspensión de la bacteria pura, se realiza una aglutinación en latex con antiseros O-157. Si resultase una aglutinación positiva, se considera un diagnóstico probable de E. coli O157.

También pueden usarse métodos de ELISA para la detección rápida del antígeno O157 en muestras fecales; sin embargo, es necesario corroborar la producción de Stx, debido a que no todas las O157 son productoras de esta toxina.

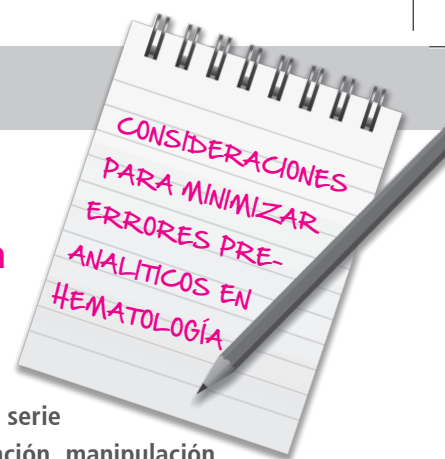
Cuando el laboratorio reporte el aislamiento de E. coli como patógeno, en un cuadro de diarrea, se debe tener presente su importancia como agente causal de cuadros graves de diarrea principalmente en niños menores de cinco años y no sólo considerarla como una bacteria de flora normal.

Por tanto, todas las cepas aisladas deben enviarse a un Centro de Referencia para su caracterización definitiva. ■

Consideraciones para la obtención, manipulación, transporte y conservación de la muestra para hematología

Los errores cometidos durante el procesamiento de una muestra, se dividen en pre-analíticos, analíticos y post-analíticos. Según algunas publicaciones, los errores pre-analíticos constituyen aproximadamente el 70 % del total.

El laboratorio de hematología no está exento de estas estadísticas. Listaremos pues una serie de consejos a tener en cuenta para reducir los errores pre-analíticos durante la obtención, manipulación, transporte y conservación de las muestras remitidas al servicio de hematología.



► Obtención de muestras con anticoagulantes

La sangre con anticoagulante debe procesarse lo antes posible ya que se deteriora con facilidad incluso a 4°C.

EDTA sódico o potásico: Es el anticoagulante de elección para el recuento de glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas y la determinación de hemoglobina.

El ICSH (International Council for Standardization in Hematology) recomienda usar la sal dipotásica en una concentración de 1,5±0,25 mg/ml de sangre. La sal tripotásica, a esa concentración, produce un achicamiento de los glóbulos rojos disminuyendo el hematocrito en 2-3%. El MCV aumenta más rápidamente en el tiempo que con la sal dipotásica.

El exceso de EDTA de cualquier tipo produce cambios degenerativos en glóbulos rojos (crenados), blancos y plaquetas.

Citrato trisódico (32 g/L): Forma complejos con el calcio. Se utiliza para las siguientes determinaciones:

- ESR, dilución 1:4 Ejemplo--> 0,50 ml de citrato+2,0 ml sangre
- Coagulación, Dilución 1:9 Ejemplo--> 0,5 ml de citrato +4,5 ml sangre.

Heparina: (10-20 IU/mL) Actúa neutralizando la trombina inhibiendo la interacción de factores de la coagulación en presencia de antitrombina III. Puede utilizarse para pruebas de hematología, teniendo en cuenta lo siguiente:

- Permite el recuento de glóbulos rojos y plaquetas.
- No es recomendable para recuentos de blancos pues se pueden agregar.
- Mantiene tamaño de glóbulos rojos y blancos.
- No sirve para realizar extendidos de sangre, al colorear por MGG se tiñe el fondo de azul.

Extendido: Debe realizarse con la sangre sin anticoagulante.

- Cuando se trabaja con muestras de riesgo puede realizarse el extendido con sangre con anticoagulante hasta de 1 hora después de extraída.

► Efecto del tiempo de conservación de las muestras

Glóbulos blancos: Con el tiempo disminuye paulatinamente el recuento.

- Hasta 1 hora a t.a. no se observan cambios apreciables en la morfología con respecto a la sangre recién obtenida, aún se puede realizar un extendido para colorear.
- A las 3 horas a t.a. hay cambios, pero aun es posible distinguir los tipos celulares.
- A las 12-18 hs. a t.a. los cambios son muy importantes:

Polimorfonucleares: el núcleo toma un color homogéneo y los lóbulos se separan, aparecen vacuolas citoplasmáticas y el borde celular no está bien definido.

Mononucleares: se observan vacuolas en el citoplasma y núcleo

con lobulación irregular.

Linfocitos: núcleo lobulado y con coloración homogénea, vacuolas en citoplasma.

- Si hay exceso de anticoagulante, el recuento disminuye en 1-2 hs.

Glóbulos rojos: Con el tiempo aumentan de tamaño, y por lo tanto aumenta el MCV. Este no se modifica dentro de las 24hs si la sangre se conserva a 4°C.

- A las 6 horas a t.a. (18-25°C) los cambios no son apreciables, luego aumenta la presencia de glóbulos crenados y esféricos.

Plaquetas: A medida que pasa el tiempo disminuye paulatinamente el recuento.

Reticulocitos: En sangre con EDTA a t.a. decae su valor a las 6 hs aproximadamente. Si la sangre es mantenida a 4°C se conservan hasta 24 hs.

Hemoglobina: Permanece inalterada varios días, siempre que la sangre no se contamine.

ESR: Se debe efectuar dentro de las 2 hs de la toma de muestra. Si la sangre se mantiene a 4°C se puede efectuar dentro de las 24 hs.

► Otros puntos importantes a tener en cuenta:

- Agitación adecuada de los tubos previo al procesamiento (mezcla muestra-anticoagulante).
- Eliminación de microagregados.
- Todos los cambios se retrasan si se conserva la sangre a 4°C
- Cuando se trabaja con sangre conservada a 4°C, antes de la correcta homogeneización, debe tomar temperatura ambiente.

Los laboratorios clínicos producen resultados analíticos que son útiles para el diagnóstico, pronóstico, control del tratamiento y prevención de las enfermedades.

✓ **El esfuerzo por la mejora de la calidad analítica, a través del mejor equipo, los mejores reactivos y los mejores controles y calibradores, se desperdicia si ocurren errores en la etapas pre y post analíticas.**

Dra. María Verónica Negrussi
CT Series - WL Counter 19/19 CP
Product Team

Novedades

Microalbuminuria, un predictor potente de insuficiencia renal en pacientes con hipertensión.

Investigadores italianos han reportado que la microalbuminuria es indicativa de un riesgo elevado de insuficiencia renal en pacientes no diabéticos con hipertensión. Estos hallazgos enfatizan la ventaja de realizar la evaluación de la relación albúmina/creatinina en orina como guía en el manejo de la hipertensión. También sugieren que pacientes con microalbuminuria deberían ser estudiados exhaustivamente en relación al riesgo cardiovascular y renal. El estudio se llevó a cabo sobre 1122 pacientes no diabéticos con hipertensión durante 11,8 años. El objeto del estudio fue llegar a una mejor comprensión de la historia natural de la enfermedad renal hipertensiva especialmente en los primeros estadios a fin de prevenir o dilatar las secuelas.

Clin J Am Soc Nephrol doi: 10.2215/CJN.07271009

Infección crónica por HCV incrementa el riesgo de carcinoma renal

Estudios llevados a cabo sobre una gran cantidad de pacientes en el Henry Ford Hospital de Detroit (USA) indicó que pacientes con infección crónica por virus de la hepatitis C (HCV) tienen un alto riesgo de desarrollar carcinoma de células renales (CCR). Este análisis es el resultado del estudio de casos realizados durante los pasados 5 años y sugieren una conexión entre la infección por HCV y el carcinoma renal. Se ha visto que los pacientes con infección por HCV están en riesgo de desarrollar enfermedad renal y se ha observado también que el CCR ha aumentado su incidencia en los últimos 20 años, aunque las causas de este aumento son desconocidas. Los autores del trabajo han observado que el CCR en pacientes con infección por HCV, lo que motivó un estudio más profundo.

Este estudio integró los datos administrativos de 67.063 pacientes adultos tratados en el hospital entre 1997 y 2006 para quienes se obtuvo un registro de testeo de HCV. Los datos de CCR se obtuvieron de los registros del servicio de oncología del hospital. Los pacientes seropositivos mostraron que se encontraban en mayor riesgo de desarrollar CCR que los seronegativos.

Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2010;19:1066-73

Real time PCR en el diagnóstico de úlceras de córnea

Investigaciones recientes han mostrado la utilidad de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (real time PCR) para detectar patógenos bacterianos o fúngicos en pacientes con úlcera de córnea.

Los hallazgos sugieren que la real time PCR es un método alternativo interesante por ser rápido y sensible, frente a los cultivos bacterianos y fúngicos que son mucho más lentos y de los exámenes de extendidos que dependen de la habilidad del operador.

Los primers y probes utilizados se diseñaron para detectar 6 patógenos simultáneamente incluyendo: Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, S. Aureus resistente a la metilicina, y especies de Candida y Fusarium.

Los investigadores recogieron dos muestras de raspado de córnea de pacientes que habían sido diagnosticados con úlcera de córnea y pretratados con antibióticos.

En comparación con los cultivos, la PCR tuvo una sensibilidad del 100%. Los patógenos fueron detectados y cuantificados por PCR en dos horas, contra las 48 hs de un cultivo regular.

Arch Ophthalmol 2010;128:535-540

Agenda

14 y 15 de Octubre
Córdoba, Argentina

XXXIII Reunión del Capítulo Argentino de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición (CASLAN) - II Jornadas Internacionales de Actualización en Nutrición y Tecnología de Alimentos
Sede: Baterías D - Ciudad Universitaria

Más información:

<http://www.fbioyf.unr.edu.ar/caslan/>

Del 20 al 23 de Octubre
Guadalajara Jalisco, México

XL Congreso Mexicano de Patología Clínica

Colegio de Médicos Patólogos Clínicos de Jalisco, A.C.

Sede: Expo Guadalajara

Más información:

<http://www.cicmundiales.com.mx/ampc-2010.html>

Del 28 al 30 de Octubre
Montevideo, Uruguay

XIII Congreso Uruguayo de Patología Clínica "El Laboratorio de Patología Clínica como herramienta imprescindible en la evaluación de la Salud". III Jornadas de Residente y Simposio Regional "Vacunas, Situación Actual y Perspectivas Futuras en Relación a Infecciones Emergentes.

Sede: Centro de convenciones de la Torre de los Profesionales

Más información:

<http://www.supac.easyplanners.net/>

Del 3 al 5 de Noviembre de 2010
Buenos Aires, Argentina

VI Congreso Argentino de la Calidad en el Laboratorio Clínico. IV Jornada Latinoamericana de la Calidad en el Laboratorio Clínico.

Sede: Puerto Madero

Más información:

<http://www.fba.org.ar/calilab/>

NotiWiener 

Boletín del Servicio Bibliográfico de Wiener Laboratorios S.A.I.C.

Número 149 - Año XLIV - Septiembre de 2010

Director: Gustavo A. Capriotti

Redactor: Centro de Investigación y Biotecnología (CIBIO) - Marketing

Editor Responsable: Wiener Laboratorios S.A.I.C.

www.wiener-lab.com.ar



Wiener Laboratorios S.A.I.C.

Riobamba 2944,

S2003GSD Rosario, Argentina

Tel.: +54 341 4329191/6

Moreno 1850, 2° piso,

C1094ABB Buenos Aires, Argentina

Tel.: +54 11 43754151/4

marketing@wiener-lab.com.ar - www.wiener-lab.com.ar