

BIBLIOTECA DE PRUEBAS

Servicio de Inmunología
AGC – Laboratorio de Medicina

16 de junio de 2022

Contenido

ACTIVIDAD FUNCIONAL DEL COMPLEMENTO	6
BANDAS OLIGOCLONALES.....	8
CADENAS LIGERAS LIBRES	10
CRIOGLOBULINAS	12
CUANTIFICACIÓN DE IGD	14
CUANTIFICACIÓN DE INMUNOGLOBULINAS (IGG, IGA, IGM)	16
CUANTIFICACIÓN DE SUBCLASES DE INMUNOGLOBULINAS (IGG1, IGG2, IGG2 E IGG4)	18
ESTUDIO BÁSICO DEL COMPLEMENTO (C3 Y C4)	20
ESTUDIO DE EDEMA ANGIONEURÓTICO (ANGIOEDEMA HEREDITARIO)	22
FACTOR REUMATOIDE	24
IGE ESPECÍFICA.....	26
<i>LISTA DE ALÉRGENOS DISPONIBLES</i>	28
IGE TOTAL	33
IGG ESPECÍFICA	35
INMUNOFIJACIÓN EN SUERO Y ORINA.....	37
PRECIPITINAS	39
TRIPTASA	41
FARMACOGENÓMICA DE LA TOXICIDAD POR ABACAVIR (HLA-B*57:01).	43
ESTUDIO GENÉTICO DE LA ARTRITIS REUMATOIDE.	45
ESTUDIO DE HLA-B27 (ESPONDILOARTROPATÍAS)	47
ESTUDIO GENÉTICO DE LA ENFERMEDAD DE BEHÇET.	49
ESTUDIO GENÉTICO DE LA ENFERMEDAD CELIACA.....	51
ESTUDIO GENÉTICO DE LA DIABETES MELLITUS TIPO I.	53
ESTUDIO GENÉTICO DE LA NARCOLEPSIA.....	55
ESTUDIO GENETICO DE LA PSORIASIS (HLA-CW6).	57
ESTUDIO DE LOS RECEPTORES KIR Y DE LOS ALELOS HLA-C* EN EL FALLO REPRODUCTIVO.....	59
ESTUDIO GENÉTICO DE LA HEMOCROMATOSIS.	61
TIPAJE HLA EN TRASPLANTE.....	65
DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-HLA.....	68
PRUEBA CRUZADA PRETRASPLANTE.	71
ESTUDIO DE MARCADORES DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER EN LCR.....	74
ÁCIDO MICOFENÓLICO	77

CICLOSPORINA.....	79
TACROLIMUS	81
RAPAMICINA Ó SIROLIMUS	83
EVEROLIMUS.	85
DETERMINACIÓN DE POBLACIONES LINFOCITARIAS EN SANGRE PERIFERICA.	87
DETERMINACIÓN DE POBLACIONES LEUCOCITARIAS Y SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS EN LAVADO BRONCOALVEOLAR Y EN EL ESPUTO INDUCIDO.	89
SCREENING DE INMUNODEFICIENCIA PRIMARIA	91
ANTICUERPOS ANTINUCLEARES.....	93
ANTICUERPOS ANTI-CENTROMERO	95
ANTICUERPOS ANTI-DNA	96
ANTICUERPOS ANTI-ENA	98
ANTICUERPOS ANTI-SS-A/RO60	101
ANTICUERPOS ANTI-SS-A/RO52	102
ANTICUERPOS ANTI-SS-B/LA.....	104
ANTICUERPOS ANTI-RNP	105
ANTICUERPOS ANTI-SM	106
ANTICUERPOS ANTI-SCL-70 (TOPOISOMERASA)	107
ANTICUERPOS ANTI-JO-1	108
ANTICUERPOS ANTI-PROTEINA RIBOSOMAL P.....	109
ANTICUERPOS ANTI-HISTONAS	110
PERFIL DE ANTICUERPOS ASOCIADOS A MIOSITIS.....	111
ANTICUERPOS ANTI-PL-7	113
ANTICUERPOS ANTI-MDA-5	114
ANTICUERPOS ANTI-NXP2.....	115
ANTICUERPOS ANTI-SRP	115
PERFIL DE ANTICUERPOS ASOCIADOS A ESCLEROSIS SISTEMICA	117
ANTICUERPOS ANTI-PM-SCL	120
ANTICUERPOS ANTI-RNA POLIMERASA III.....	120
ANTICUERPOS ANTI-TH/TO.....	120
ANTICUERPOS ANTI-U3RNP/FIBRILARINA.....	121
ANTICUERPOS ANTI-NOR-90	121
ANTICUERPOS ANTI-KU.....	121
ANTICUERPOS ANTI-FOSFOLIPIDOS	122
ANTICUERPOS ANTI-CARDIOLIPINA IGG.....	124

ANTICUERPOS ANTI-CARDIOLIPINA IGM	124
ANTICUERPOS ANTI-B ₂ GLICOPROTEINA IGG	124
ANTICUERPOS ANTI-B ₂ GLICOPROTEINA IGM	124
ANTICUERPOS ANTI-PEPTIDO CICLICO CITRULINADO.....	125
ANTICUERPOS ANTI-CITOPLASMA DE NEUTROFILO	126
ANTICUERPOS ANTI-MIELOPEROXIDASA	130
ANTICUERPOS ANTI-PROTEINASA 3	134
ANTICUERPOS ANTI-MEMBRANA BASAL GLOMERULAR	138
ANTICUERPOS ANTI-MUSCULO LISO	140
ANTICUERPOS ANTI-MICROSOMAS DE HIGADO Y RIÑON (LKM-1).....	142
ANTICUERPOS ANTI-MITOCONDRIALES M2	144
ANTICUERPOS ANTI-CITOCROMO P450 2D6	146
ANTICUERPOS ANTI-ANTIGENO SOLUBLE HEPATICO (SLA)/ANTIGENO DE HIGADO PANCREAS (LP) ..	147
ANTICUERPOS ANTI-CITOSOL HEPATICO TIPO 1 (LC1)	148
ANTICUERPOS ANTI-GP210	149
ANTICUERPOS ANTI-SP100.....	150
ANTICUERPOS ANTI-CELULAS PARIETALES GASTRICAS	151
ANTICUERPOS ANTI-FACTOR INTRINSECO	152
ANTICUERPOS ANTI-SACCHAROMYCES CEREVISIAE (ASCA)	153
ANTICUERPOS ANTI-TRANSGLUTAMINASA IGA	154
ANTICUERPOS ANTI-ENDOMISIO IGA.....	157
ANTICUERPOS ANTI-TRANSGLUTAMINASA IGG	159
ANTICUERPOS ANTI-ENDOMISIO IGG	160
ANTICUERPOS ANTI-PEPTIDOS DEAMIDADOS DE LA GLIADINA/ GLIADINA DEAMIDADA IGG	161
ANTICUERPOS ANTI-PEPTIDOS DEAMIDADOS DE LA GLIADINA/ GLIADINA DEAMIDADA IGA.....	163
ANTICUERPOS ANTI-MUSCULO ESTRIADO	165
ANTICUERPOS ANTI-MUSCULO CARDIACO	166
ANTICUERPOS ANTI-SUSTANCIA INTERCELULAR/ MEMBRANA BASAL DE PIEL	167
ANTICUERPOS ANTI-GLUTAMICO DECARBOXILASA	168
ANTICUERPOS ANTI-IA2	170
ANTICUERPOS ANTI-TRANSPORTADOR 8 DEL ZINC	171
PERFIL DE ANTICUERPOS ONCONEURONALES	172
ANTICUERPOS ANTI-HU	173
ANTICUERPOS ANTI-YO.....	174
ANTICUERPOS ANTI-RI	174

ANTICUERPOS ANTI-CV2/CRMP5	175
ANTICUERPOS ANTI-ANFIFISINA	175
ANTICUERPOS ANTI-MA2/MA1	175
ANTICUERPOS ANTI-TR/DNER/DNER	176
ANTICUERPOS ANTI-SOX1	176
ANTICUERPOS ANTI-ZIC4	177
ANTICUERPOS ANTI-TITINA.....	177
ANTICUERPOS ANTI-RECOVERINA.....	178
ANTICUERPOS ANTI-ACUAPORINA	179
ANTICUERPOS ANTI-GANGLIOSIDOS.....	181
ANTICUERPOS ANTI-NEUROPILO	182
ANTICUERPOS ANTI-NMDAR	183
ANTICUERPOS ANTI-LGI1	184
ANTICUERPOS ANTI-RECEPTOR FOSFOLIPASA A2 (PLA2R)	185
MONITORIZACION TERAPIA ADALIMUMAB	189
MONITORIZACION TERAPIA INFlixIMAB	192
ANTICUERPOS ANTI-RECEPTOR DE ACETIL COLINA	195
ANTICUERPOS ANTI-QUINASA ESPECÍFICA DE MÚSCULO (MUSK).....	196
ANTICUERPOS ANTI-21-HIDROXILASA (21-OH)	197
ANTICUERPOS ANTI-ANHIDRASA CARBONICA	198
ANTICUERPOS ANTI-INSULINA.....	199

ACTIVIDAD FUNCIONAL DEL COMPLEMENTO

INFORMACIÓN CLÍNICA

El Complemento forma parte del sistema inmune innato. Está constituido por más de 30 proteínas sintetizadas en su mayoría por el hígado y que se encuentran en forma inactiva en la sangre y en los líquidos intersticiales. La activación de estas proteínas da lugar a una reacción en cascada en la que la activación de unos componentes hace que se activen otros. La función del Complemento es la defensa frente a las infecciones mediante tres mecanismos: lisis directa de los microorganismos, opsonización y posterior fagocitosis y la quimiotaxis y activación de los leucocitos. El complemento tiene otras funciones como la eliminación de los inmunocomplejos de la sangre.

El Sistema del Complemento está constituido por tres vías: 1) vía clásica, 2) vía alternativa y 3) vía de las lectinas.

La vía clásica comienza con la unión de un anticuerpo a su antígeno (por ejemplo un microorganismo) y termina con su lisis. Los inmunocomplejos también son capaces de activar esta vía. En esta vía clásica participan las proteínas denominadas C1 a C9 cuya función última es la lisis de microorganismo. La activación de los distintos componentes de esta cascada va generando también péptidos quimiotácticos que activan a los leucocitos, y son capaces de unirse a los inmunocomplejos, ayudando a ser eliminados.

La vía alternativa comienza con la activación espontánea del componente C3 del complemento, generando una nueva proteína que en presencia de superficies extrañas, como por ejemplo la pared de una bacteria, no es inactivada por el factor I y continúa activando a otros factores del complemento terminando también en la lisis de la bacteria.

La vía de las lectinas comienza con la unión del MBL, una proteína homóloga al C1q, a determinados azúcares presentes en la superficie de muchos microorganismos y termina también con la lisis del microorganismo.

Las deficiencias en las distintas proteínas del sistema del complemento tiene diferentes consecuencias patológicas. Si están afectados los componentes tempranos de la ruta clásica (C1, C2, C4 y C3) no se eliminan correctamente los inmunocomplejos y no se puede realizar una opsonización correcta de los microorganismos. Esto tiene como consecuencia, por una parte, que se produzcan síntomas similares a determinadas enfermedades autoinmunes y por otra que haya una mayor sensibilidad a bacterias encapsuladas. Si hay una deficiencia de los componentes finales (C5 a C9) se produce un déficit en la lisis de bacterias y una mayor susceptibilidad a infecciones por *Neisseria*. La deficiencia de la ruta clásica es muy frecuente (20% de los individuos de nuestra población) y no se conoce ninguna asociación patológica clara con esta deficiencia. En la activación del complemento también participan muchas proteínas reguladoras cuya deficiencia produce también diversas patologías. La gran cantidad de proteínas implicadas hace que cuando hay una sospecha de déficit del complemento sea muy difícil el estudio individual de cada una de ellas. Por ello es muy útil por realizar un "screening" previo que permita determinar primero la actividad funcional total de cada una de las rutas.

Aunque la actividad del complemento puede estar disminuida en determinadas enfermedades autoinmunes e infecciones, su determinación sólo debe realizarse en el caso de sospecha de que haya un déficit genético de alguno de sus componentes.

UTILIDAD CLÍNICA

Evaluación de pacientes con sospecha de déficit genético de alguno de los componentes del complemento en el caso de aumento de infecciones, enfermedades tipo lupus o glomerulonefritis.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

Se estudia cada uno de las tres rutas por separado (clásica, alternativa y de las lectinas). En los pocillos de una placa de ELISA, en los que hay unidos componentes que activan una de estas rutas e inhiben a las otras dos, se incuban el suero de los pacientes. Cada uno de los tres pocillos se activará su ruta correspondiente generando finalmente el complejo de ataque a membrana (CAM), el cual queda unido a las paredes del pocillo. Tras lavar se añade un anticuerpo frente al CAM que lleva unido un marcador enzimático y se incuban. Tras otro lavado se añade un sustrato que da un producto coloreado cuando actúa el enzima unido al anticuerpo. Si cada una de las rutas funciona correctamente aparecerá color y si hay un déficit en alguna de ellas al no generarse el producto final (el CAM) no se producirá color. Se utiliza también un suero control cuya actividad se considera el 100% y un control deficitario para las tres rutas.

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere preparación especial.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre sin anticoagulante. (Contenedor): Tubo de tapón rojo.

El suero debe almacenarse inmediatamente a -80°C ya que el complemento es un componente termolábil del suero. Si se transporta desde otro laboratorio debe de llegar congelado.

VALORES DE REFERENCIA

- Ruta clásica: 70% - 120% respecto al control
- Ruta alternativa: 30% - 113% respecto al control
- Ruta de las lectinas: 0 - 113%

VALORES CRITICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

En las inmunodeficiencias del complemento la actividad funcional de la ruta correspondiente suele ser <5% respecto al control.

El déficit de la ruta de las lectinas es muy frecuente y su significado clínico no está claro.

Cuando se encuentra una deficiencia de la actividad funcional del complemento se debe de realizar posteriormente un estudio individualizado del posible componente afectado siguiendo los resultados obtenidos en la prueba:

Ruta clásica	Ruta lectinas	Ruta alternativa	Posible deficiencia
Positiva	Positiva	Positiva	Ninguna
Neg.	Positiva	Positiva	C1q, C1r, C1s
Positiva	Positiva	Neg.	Properdina, Factor B, Factor D
Positiva	Neg.	Positiva	MBL, MASP2
Neg.	Neg.	Neg.	C3, C5, C6, C7, C8, C9
Neg.	Neg.	Positiva	C4, C2 o ambos

Para el diagnóstico final se requiere un estudio genético del componente implicado.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunoproteínas: Máximo 20 días en el caso de actividad normal que no se requieran estudios adicionales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Mackay IR, Rosen FS. Complement. N Engl J Med 2001;344:1058-66.
2. Botto M, et al. Complement in human diseases: lessons from complement deficiencies. Mol Immunol 2009;46:2774-83.

BANDAS OLIGOCLONALES

INFORMACIÓN CLÍNICA

La esclerosis múltiple es una enfermedad inflamatoria desmielinizante del SNC. Se caracteriza por la aparición de lesiones en determinadas zonas del cerebro (placas) producidas por una respuesta inmune dirigida contra los componentes de la vaina de mielina. Se ha observado que en pacientes con esta enfermedad aparece un pequeño número de clones de células B intratecales autorreactivas productoras de inmunoglobulinas de tipo IgG e IgM. Estas inmunoglobulinas aparecen como bandas oligoclonales cuando se realiza un isoelectroenfoque del LCR. La presencia de bandas oligoclonales es muy específico de las esclerosis múltiple y ayuda a diferenciar esta enfermedad de otras patologías inflamatorias no infecciosas del SNC.

Las bandas oligoclonales también pueden aparecer en determinados síndromes neurológicos paraneoplásicos.

UTILIDAD CLÍNICA

Diagnóstico de pacientes con sospecha de esclerosis múltiple.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

Se realiza mediante la técnica de isoelectroenfoque. Se realiza en un gel de agarosa preparado con un tampón que contiene anfolitos y que está sobre un soporte de plástico. El gel se somete a una pre-electroforesis para que se distribuyan los anfolitos y se establezca un gradiente de pH. A continuación se realiza en este gel una electroforesis en paralelo de suero y LCR del paciente. Las proteínas migran según su carga desplazándose hasta que alcanzan la zona del gradiente que presenta un pH igual a su punto isoelectro. A continuación se añaden antiseros anti-IgG marcados y posteriormente se realiza un revelado.

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

- Sangre sin anticoagulante. (Contenedor): Tubo de tapón rojo.
- Líquido cefalorraquídeo. (Contenedor): Tubo de plástico sin aditivos ni gelosa.
- Ambas muestras deben de ser obtenidas el mismo día.

VALORES DE REFERENCIA

- Bandas oligoclonales IgG: Negativo.
- Índice de albúmina: 0 – 9.
- Índice IgG del LCR: 0 – 0,7.
- Síntesis de IgG: -10.0 – 3.0 mg/día.

VALORES CRÍTICOS

No aplica.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

La interpretación sólo es posible cuando tenemos muestras de suero y de LCR obtenidos en el mismo momento. Los patrones que pueden aparecer al realizarse un isoelectroenfoque de suero y LCR son los siguientes:

- En una persona sana la IgG aparecería, tanto en el suero como en el LCR, distribuida a lo largo del gel sin observarse bandas discretas (sin bandas oligoclonales).

- Bandas oligoclonales en el LCR que están ausentes del suero: Este patrón es compatible con la esclerosis múltiple.
- En pacientes con un componente monoclonal puede aparecer un patrón típico, tanto en el LCR como en el suero, que consiste en varias bandas oligoclonales que migran muy juntas.
- Bandas oligoclonales en el LCR y en el suero con el mismo número y distribución. Este patrón se denomina en espejo e indica alteración de la barrera hematoencefálica. Puede aparecer en determinadas enfermedades sistémicas.

Interpretación de los índices:

- Índice de albúmina: Su aumento indica alteraciones de la barrera hematoencefálica.
- Índice de IgG del LCR: Su aumento indica síntesis intratecal de IgG.
- Síntesis de IgG: Indica síntesis intratecal de IgG por día.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunoproteínas: Máximo 15 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Freedman MS et al. Recommended standard of cerebrospinal fluid analysis in the diagnosis of multiple sclerosis. A consensus Statement. Arch Neurol 2005;62:865-870.
2. Cross AH and Wu GF. Oligoclonal bands still yield clues about multiple sclerosis. Nat Rev Neurol 2010;6:588-9.

CADENAS LIGERAS LIBRES

INFORMACIÓN CLÍNICA

Los anticuerpos están formados por dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas idénticas entre sí. Las cadenas ligeras pueden ser de dos tipos, kappa o lambda. Cada célula plasmática produce uno de los cinco tipos de cadenas pesadas (γ , μ , α , δ y ϵ) junto con uno de los dos tipos de cadena ligera (kappa o lambda) para dar lugar a un único anticuerpo. En este proceso hay un exceso de producción de cadenas ligeras frente a las pesadas de aproximadamente un 40%. Este exceso se traduce en que las células plasmáticas, además de secretar el anticuerpo completo, liberan el exceso de cadenas kappa o lambda que no encuentran cadenas pesadas a las que unirse. No es igual la concentración de cadenas kappa que lambda en el suero debido a dos factores: uno es que hay dos veces más células plasmáticas kappa que lambda; otro que se eliminan por la orina mucho más rápido las cadenas kappa que las lambda. Esto implica que en el suero se presenten unas determinadas concentraciones de cadenas ligeras libres kappa y lambda diferentes entre sí, que dan lugar un ratio kappa/lambda distinto a uno. Es muy útil la cuantificación en suero de las cadenas ligeras libres, así como el ratio kappa/lambda libre, ya que cambia en situaciones patológicas, por ejemplo en las gammopatías monoclonales.

La determinación de las cadenas ligeras libres es de gran utilidad en la identificación de pacientes con mieloma múltiple ya que cuando se realiza junto con la electroforesis de proteínas del suero tiene una sensibilidad del 100%. También es muy útil para identificar pacientes con amiloidosis AL y con mieloma múltiple no secretor y para determinar el riesgo de progresión de pacientes con gammopatías monoclonales de significado incierto. Es además el mejor marcador para determinar la completa remisión de la enfermedad.

UTILIDAD CLÍNICA

Evaluación de pacientes con sospecha de mieloma múltiple, de mieloma de cadenas ligeras, mielomas múltiples no secretores, mieloma quiescente, plasmacitoma solitario, amiloidosis AL y gammopatías monoclonales de significado incierto.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

Se determina por nefelometría utilizando el sistema Freelite™. Este sistema usa anticuerpos frente a epítopos de cadenas ligeras de las inmunoglobulinas que están ocultos en la molécula de inmunoglobulina completa. Los anticuerpos son policlonales lo que permite la detección de todos los tipos de cadena ligera kappa y lambda.

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere preparación especial.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre sin anticoagulante. (Contenedor): Tubo de tapón rojo.

VALORES DE REFERENCIA

- Suero: Kappa libre 3,30 - 19,40 mg/L.
- Suero: Lambda libre 5,71 - 26,30 mg/L.
- Índice Kappa/lambda 0,26 - 1,65

VALORES CRÍTICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- Ratos anormales κ/λ apoyan el diagnóstico de gammopatía monoclonal e implica la necesidad de realizar pruebas adicionales. Niveles ligeramente elevados de este ratio pueden darse cuando hay fallo renal, lo que podría indicar la necesidad de realizar pruebas de función renal.
- Bajas concentraciones de κ , λ o de ambas indica mala función de la médula ósea.
- Concentraciones elevadas tanto de κ como de λ con ratio κ/λ normal puede indicar:
 - Fallo renal.
 - Aumento de la producción de cadenas ligeras libres que puede darse en infecciones.
 - Gammopatías policlonales de diferente tipo de cadena pesada (infrecuente).
- Elevada concentración tanto de κ como de λ con ratio κ/λ anormal puede indicar la presencia de gammopatía monoclonal junto a fallo renal.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunoproteínas: Máximo 8 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Katzman JA et al. Screening panels for detection of monoclonal gammopathies. Clin Chem 2009;55:1517-22.
2. Dispenzieri A et al. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. Leukemia 2009;23:215-24.
3. Kyle RA et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple myeloma: IMEG consensus perspectives risk factors for progression and guidelines for monitoring and management. Leukemia 2010;24:1121-27

CRIOGLOBULINAS

INFORMACIÓN CLÍNICA

Las crioglobulinas son inmunoproteínas que precipitan in vitro a temperaturas inferiores a 37°C y se redisuelven cuando se vuelven a calentar. La crioglobulinemia se refiere a la presencia de crioglobulinas en el suero. La crioglobulinemia está asociada con procesos linfoproliferativos, autoinmunitarios e infecciosos. También existe la crioglobulinemia esencial no asociada con otra patología. Clínicamente, la presencia de crioglobulinas en sangre se asocia a fenómenos de hiperviscosidad, vasculitis y a la formación de inmunocomplejos. Sin embargo, muchos pacientes con crioglobulinemia permanecen asintomáticos, por lo que se emplea el término "síndrome crioglobulinémico" cuando están presentes las manifestaciones clínicas.

Las crioglobulinemias se clasifican en base a su composición química en tres tipos:

- **Tipo I** (crioglobulinemias monoclonales): están constituidas por un solo isotipo de inmunoglobulina monoclonal. Suelen estar asociadas con enfermedades linfoproliferativas como el mieloma múltiple, la macroglobulinemia de Waldeström o la leucemia linfocítica crónica.
- **Tipo II** (crioglobulinemias mixtas monoclonales): constituidas por inmunoglobulinas de dos isotipos diferentes, una de ellas monoclonal (generalmente IgM) con actividad factor reumatoide (es decir, se une a la porción Fc de las IgG) y el resto policlonal IgG. Suelen estar asociadas con enfermedades autoinmunitarias, linfoproliferativas o infecciones víricas.
- **Tipo III** (crioglobulinemias mixtas policlonales): están constituidas por dos o más isotipos de inmunoglobulinas de carácter policlonal, generalmente IgG e IgM. Con frecuencia la IgM policlonal presenta actividad factor reumatoide. Están asociadas a enfermedades autoinmunes, infecciones víricas y procesos linfoproliferativos.

UTILIDAD CLÍNICA

Evaluación de pacientes con vasculitis, síndrome de hiperviscosidad o glomerulonefritis.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

La sangre se mantiene a 37°C durante 1 h y entonces se centrifuga. Se llena un tubo graduado para medir la fracción de volumen del precipitado y el resto (unos 6 ml) se coloca en un tubo cónico transparente. Se incuban a 4°C durante 4-7 días. Pasado este tiempo se centrifugan y en el caso de ser la prueba positiva se lee en la escala del tubo graduado la altura del crioprecipitado, expresándose como un porcentaje con relación al volumen total de suero. El crioprecipitado del tubo cónico se utiliza para medir la actividad factor reumatoide y para identificar, mediante inmunofijación el tipo de crioglobulinemia.

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere preparación especial.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre sin anticoagulante. (Contenedor): Tubo de tapón rojo. Se requiere al menos 10 ml.

Como algunas crioglobulinas precipitan rápidamente a temperaturas inferiores a 37°C el material de extracción debe de estar atemperado previamente y la sangre deberá mantenerse a esta temperatura desde su obtención hasta que se haya separado el suero.

VALORES DE REFERENCIA

No existen.

VALORES CRITICOS

No aplica.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- Se pueden observar cantidades muy pequeñas de criocrito en individuos sanos.
- En estudios periódicos de crioglobulinas como seguimiento de la enfermedad es suficiente con determinar el crioprecipitado no siendo generalmente necesario repetir la inmunofijación para determinar el tipo de inmunoglobulinemia.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunoproteínas: Máximo 10 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Diéguez Junquera MA y García Montes M. Crioglobulinas. Significado clínico y recomendaciones metodológicas. Quimica Clinica 2001;20:446-9.
2. Kallemuchikkal U, Gorevic PD. Evaluation of Cryoglobulins. Arch Pathol Lab med 1999;123:119-25.
3. Ramos-Casals M, et al. The cryoglobulinaemias. Lancet 2012;379:348-60.

CUANTIFICACIÓN DE IGD

INFORMACIÓN CLÍNICA

La concentración sérica de la Inmunoglobulina D es muy baja. Se desconoce cuál es su función como proteína soluble, ya que actúa como receptor de membrana en los linfocitos B maduros. Sin embargo en determinados síndromes autoinflamatorios se ha observado un aumento de la concentración de IgD, sobre todo en el síndrome de hiper IgD. Se desconoce el significado que puede tener es incremento en la patogenia de estas enfermedades. El aumento de la IgD también puede ser monoclonal en el caso de mielomas. Los mielomas IgD son muy poco frecuentes ya que representan aproximadamente el 1% de todos ellos.

UTILIDAD CLÍNICA

En caso de sospecha de síndrome de fiebre periódica o de síndrome de hiper IgD y en casos de sospecha de mieloma IgD.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

La cuantificación de la inmunoglobulina D (IgD) se realiza mediante turbidimetría. En esta técnica se añade a la muestra de suero un anticuerpo específico frente a la IgD que queramos detectar. El anticuerpo se añade en unas condiciones en las que la unión con su proteína va a producir una inmunoprecipitación en fase líquida. Cuando se aplica una luz a la muestra, el inmunoprecipitado va a dispersarla. La luz dispersada por estos inmunocomplejos solubles provoca la pérdida de la luz transmitida, que se mide mediante células fotoeléctricas como densidad óptica. La cantidad de transmitida es inversamente proporcional a la concentración de proteína en suero.

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre sin anticoagulante. (Contenedor): Tubo de tapón rojo.

VALORES DE REFERENCIA

0 – 132 mg/L.

VALORES CRÍTICOS

No aplica.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

En los casos de enfermedades por fiebre periódica en los que la concentración de IgD sea mayor de 70 U/mL se debe de enviar una nueva muestra pasados aproximadamente 2 meses para confirmar el resultado.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunoproteínas: Máximo 8 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Schroeder HW, Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. J Allergy Clin Immunol 2010;125:S41-52.
2. Vladutiu AO. Immunoglobulin D: Properties, Measurement, and Clinical Relevance. Clin Diagn Lab Immunol 2000;7:137-140.

CUANTIFICACIÓN DE INMUNOGLOBULINAS (IgG, IgA, IgM)

INFORMACIÓN CLÍNICA

Las inmunoglobulinas están constituidas por dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas. Hay cinco tipos diferentes de cadenas pesadas: γ , μ , α , δ y ϵ . Según el tipo de cadena pesada presente en las inmunoglobulinas, éstas pueden ser IgG, IgA, IgM, IgD e IgE. El tipo de cadena pesada que posea una inmunoglobulina hace que tenga una función u otra. Las inmunoglobulinas más abundantes en el suero son la IgG, IgA e IgM, siendo su concentración diferente según la edad, ya que va aumentando hasta llegar a la edad adulta. También hay variaciones dependiendo del sexo o la raza, aunque estas diferencias no tienen importancia clínica.

Son numerosas las enfermedades en las que se produce un aumento o una disminución de los niveles de inmunoglobulinas (IgG, IgA e IgM), aunque por sí sola esta variación no es indicativa de ninguna enfermedad concreta. Su medición está indicada en los siguientes casos:

- En sospechas de inmunodeficiencias
- Cuando haya una sospecha de mieloma, de macroglobulinemia de Waldenstrom o de linfoma.
- Enfermedades del tejido conectivo.
- Sarcoidosis.
- Enfermedades hepáticas (hepatitis, cirrosis biliar primaria).
- Tras un trasplante de médula ósea (monitorización de la reconstitución de la inmunidad adaptativa).

La concentración de inmunoglobulinas en suero puede estar disminuida en casos de inmunodeficiencias (agammaglobulinemia ligada al cromosoma X, inmunodeficiencia variable común, etc), determinadas infecciones (como por ejemplo en las producidas por determinados herpesvirus, en el sarampión, etc), drogas (inmunosupresores, quimioterapia), plasmaféresis, pérdida renal o pérdida gastrointestinal.

La concentración puede estar aumentada en determinadas infecciones (osteomielitis, endocarditis bacteriana, tuberculosis, etc) y en determinadas enfermedades autoinmunes (como lupus, artritis reumatoide o síndrome de Sjögren), en sarcoidosis, en determinadas enfermedades hepáticas (cirrosis biliar primaria).

UTILIDAD CLÍNICA

Diagnóstico en enfermedades en las que se suele observar un incremento o una disminución de la concentración de inmunoglobulinas, o en procesos en los que se requiere una monitorización de la concentración de las mismas, como en la reconstitución del sistema inmune tras un trasplante de médula ósea o en casos en los que se ha administrado inmunoglobulinas intravenosas.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

La cuantificación de inmunoglobulinas se realiza mediante turbidimetría. En esta técnica se añade a la muestra de suero un anticuerpo específico frente a la proteína que queramos detectar. El anticuerpo se añade en unas condiciones en las que la unión con su proteína va a producir una inmunoprecipitación en fase líquida. Cuando se aplica una luz a la muestra, el inmunoprecipitado va a dispersarla. La luz dispersada por estos inmunocomplejos solubles provoca la pérdida de la luz transmitida, que se mide mediante células fotoeléctricas como densidad óptica. La cantidad de transmitida es inversamente proporcional a la concentración de proteína en suero.

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre sin anticoagulante. (Contenedor): Tubo de tapón rojo.

VALORES DE REFERENCIA

Valores de referencia por edad			
Edad	IgG (g/L)	IgA (g/L)	IgM (g/L)
0-4 meses	1,00 - 3,34	0,07 - 0,37	0,26 - 1,22
5-8 meses	1,64 - 5,88	0,16 - 0,5	0,32 - 1,32
9-14 meses	2,46 - 9,04	0,27 - 0,66	0,40 - 1,43
15-23 meses	3,13 - 11,7	0,36 - 0,79	0,46 - 1,52
2-3 años	2,95 - 11,56	0,27 - 2,46	0,37 - 1,84
4-6 años	3,86 - 14,7	0,29 - 2,56	0,37 - 2,24
7-9 años	4,62 - 16,82	0,34 - 2,74	0,38 - 2,51
10-12 años	5,03 - 17,19	0,42 - 2,95	0,41 - 2,55
13-15 años	5,09 - 15,80	0,52 - 3,19	0,45 - 2,44
16-17 años	4,87 - 13,27	0,60 - 3,37	0,49 - 2,01
>17 años	7,67 - 15,9	0,61 - 3,56	0,37 - 2,86

VALORES CRITICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- En el caso de sospecha de inmunodeficiencia, una concentración de inmunoglobulinas normal no la excluye. En caso de que se encuentren disminuidas debe de repetirse la determinación posteriormente para comprobar que no se ha producido una disminución temporal debido una infección.
- Cuando se sospecha de la presencia de una paraproteína la cuantificación de proteínas debe de ir acompañada de un proteinograma.
- El mejor cálculo de la concentración de un componente monoclonal se obtiene del proteingrama.
- El déficit de IgA es la inmunodeficiencia más frecuente.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunoproteínas: Máximo 8 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Schroeder HW, Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. J Allergy Clin Immunol 2010;125:S41-52.

CUANTIFICACIÓN DE SUBCLASES DE INMUNOGLOBULINAS (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4)

INFORMACIÓN CLÍNICA

Las inmunoglobulinas están constituidas por dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas. Hay cinco tipos diferentes de cadenas pesadas: γ , α , μ , δ y ϵ . Según el tipo de cadena pesada presente en las inmunoglobulinas estas pueden ser IgG, IgA, IgM, IgD e IgE. Las inmunoglobulinas IgG pueden a su vez ser subclasificadas según la estructura molecular de la cadena pesada γ en IgG1, IgG2, IgG3 y IgG4. La concentración en el suero de cada una de estas subclases es diferente, siendo la proporción aproximada de cada una de ellas en suero del 65% 20% 10% y 5% respectivamente. Cada una de estas moléculas tiene propiedades ligeramente diferentes.

Por ejemplo, en cuanto a la fijación del complemento, que es más eficaz con IgG1 e IgG2, no dándose esta propiedad en la IgG4. Además, cada una es producida de forma diferente en respuesta a los distintos patógenos y así, por ejemplo, la IgG2 suele producirse más frecuentemente por bacterias cubiertas de carbohidratos, las IgG1 e IgG2 en infecciones víricas y la IgG4 por parásitos.

Por todo esto es relevante conocer la concentración de cada una de las subclases de IgG ya que puede haber niveles anormales de alguna de ella aunque el resto de subclases o la IgG total estén en una concentración normal. También hay enfermedades asociadas a incrementos específicos de alguna subclase, especialmente de IgG4.

UTILIDAD CLÍNICA

En inmunodeficiencias asociadas a niveles bajos de determinadas subclases de IgG o enfermedades asociadas a niveles elevados de IgG4.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

La cuantificación de las subclases de inmunoglobulinas se realiza mediante turbidimetría. En esta técnica se añade a la muestra de suero un anticuerpo específico frente a la proteína que queramos detectar. El anticuerpo se añade en unas condiciones en las que la unión con su proteína va a producir una inmunoprecipitación en fase líquida. Cuando se aplica una luz a la muestra, el inmunoprecipitado va a dispersarla. La luz dispersada por estos inmunocomplejos solubles provoca la pérdida de la luz transmitida, que se mide mediante células fotoeléctricas como densidad óptica. La cantidad de transmitida es inversamente proporcional a la concentración de proteína en suero.

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre sin anticoagulante. (Contenedor): Tubo de tapón rojo.

VALORES DE REFERENCIA

Adultos:	IgG1: 9,40 – 11,40 g/l
	IgG2: 1,50 – 6,40 g/L
	IgG3: 0,20 – 1,10 g/L
	IgG4: 0,08 – 1,40 g/L

VALORES CRITICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- La determinación de las subclases de inmunoglobulinas forma parte del estudio de pacientes con infecciones recurrentes. Unos niveles normales de IgG no descartan que exista un déficit en alguna de las subclases, ya que un aumento general de la IgG puede enmascarar el déficit de alguna de ellas. Hay que tener en cuenta, sin embargo, que la ausencia total de una de estas subclases puede ser totalmente asintomática.
- Algunos déficits de subclases de inmunoglobulinas suelen estar asociados entre sí. Por ejemplo, el déficit de IgG2 e IgG4 suelen darse simultáneamente.
- Los déficits de subclases suelen tener consecuencias específicas. Así, el déficit de IgG2 suele estar asociado a una menor respuesta frente a polisacáridos. Por otra parte, el déficit de IgG4 no tiene consecuencias claras.
- El incremento de la IgG4 cuatro está asociado a un determinado grupo de enfermedades conocidas en conjunto como enfermedades relacionadas con IgG4.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunoproteínas: Máximo 8 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Schroeder HW, Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. J Allergy Clin Immunol 2010;125:S41-52.
2. Stone JH, Zen Y, Deshpande V. IgG4-Related disease. N Engl J Med 2012;366:539-51.

ESTUDIO BÁSICO DEL COMPLEMENTO (C3 Y C4)

INFORMACIÓN CLÍNICA

C3 y C4 son dos factores fundamentales del sistema del complemento. C4 participa en la activación de la ruta clásica, mientras que C3 es un componente central tanto de la ruta clásica como de la alternativa.

Además de en la defensa frente a microorganismos, el complemento tiene otras funciones. Una de ellas es la eliminación de inmunocomplejos, en lo que participan tanto C3 como C4. En patología en las que se produce un incremento de los inmunocomplejos, la concentración de estos dos componentes puede decrecer por consumo. Este hecho es de utilidad en el Lupus eritematoso sistémico (LES) ya que la cuantificación de C3 y C4 permite la monitorización de la enfermedad, debido a que durante la fase activa se produce una disminución de estos dos componentes. La cuantificación de C3 y C4 también es útil en el estudio de otras patologías como en el edema angioneurótico, glomerulonefritis, crioglobulinemia, sospecha de defectos primarios del complemento, etc.

UTILIDAD CLÍNICA

Evaluación de pacientes en los que se sospecha una disminución de la concentración de C3, C4 o de ambos (LES).

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

La cuantificación de C3 y C4 se realiza mediante nefelometría. En esta técnica se añade a la muestra de suero un anticuerpo específico frente a una de estas dos proteínas. El anticuerpo se añade en unas condiciones en las que la unión con su proteína va a producir una inmunoprecipitación en fase líquida. Cuando se aplica una luz a la muestra el inmunoprecipitado va a dispersarla. La luz dispersada en determinados ángulos por estos inmunocomplejos solubles se mide mediante células fotoeléctricas como densidad óptica. La cantidad de luz dispersada es proporcional a la concentración de proteína en suero.

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere preparación especial.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre sin anticoagulante. (Contenedor): Tubo de tapón rojo.

VALORES DE REFERENCIA

C3: 0,90 – 1,8 g/L.

C4: 0,1 – 0,4 g/L.

VALORES CRÍTICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- En el LES en fase activa se esperaría una disminución de C3 y de C4.
- Niveles bajos de C4 con unos niveles C3 normales se encuentran en el edema angioneurótico hereditario y en la crioglobulinemia. También puede deberse a un defecto primario de C4.
- Niveles bajos de C3 con C4 normal se encuentran cuando hay un defecto de Factor H, factor I, factor B o en defecto primario de C3.
- Niveles normales de C3 o C4 no descartan un déficit del complemento, por ejemplo de la ruta común C5 a C9.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunoproteínas: Máximo 3 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chen M, Daha MR, Kallenberg CGM. The complement system in systemic autoimmune disease. *J Autoimmun* 2010;34:276-86.
2. Mackay IR, Rosen FS. Complement. *N Engl J Med* 2001;344:1140-4.

ESTUDIO DE EDEMA ANGIOEURÓTICO (ANGIOEDEMA HEREDITARIO)

INFORMACIÓN CLÍNICA

El edema angioneurótico o angiedema puede estar originado por varias causas, siendo la más frecuente una reacción alérgica. Otra causa es la deficiencia del C1 inhibidor, que puede ser hereditaria (angioedema hereditario) o adquirida.

El angioedema hereditario es una enfermedad autosómica dominante producida por un defecto genético en el gen que codifica para el C1 inhibidor. Este déficit tiene como consecuencia un mal funcionamiento de esta proteína. Existen dos variantes de esta enfermedad, la tipo I en la que hay una disminución de la concentración de C1 inhibidor en el suero (85% de los casos de angioedema hereditario) y la tipo II en la que la concentración del C1 inhibidor es normal o está aumentado (15% de los casos). En ambos casos hay una disminución del componente C4 del complemento.

El angioedema adquirido es otra variante en la que hay un déficit en la concentración de C1 inhibidor pero sin evidencias de déficit genético en el gen que codifica a esta proteína. Está asociado a la presencia de anticuerpos anti-C1q y a enfermedades malignas de las células B. Está caracterizado por una disminución de la concentración de C1q.

UTILIDAD CLÍNICA

Evaluación de pacientes con sospecha de angioedema hereditario o angioedema adquirido.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

Se determina la concentración de C1 inhibidor en suero mediante nefelometría.

El estudio de la actividad funcional del C1 inhibidor se realiza incubando la muestra de plasma del paciente con C1 esterasa exógena, la cual se unirá e con el C1 inhibidor de la muestra inactivándolo. Tras esta incubación queda un exceso de C1 esterasa que será menor cuanto más C1 inhibidor activo había en el suero. Se le añade entonces a la muestra un sustrato de la C1 esterasa que es lisado por ésta dando un producto coloreado. La intensidad de color es inversamente proporcional a la cantidad de C1 inhibidor que había en la muestra del paciente.

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere preparación especial.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Se requiere dos tubos:

Sangre sin anticoagulante. (Contenedor): Tubo de tapón rojo.

Sangre con anticoagulante (Citrato): Tubo de tapón azul de hemograma.

VALORES DE REFERENCIA

C1 inhibidor en suero: 0.22 – 0.34 g/L.

C1q en suero: 0.10 – 0.47 g/L.

Actividad funcional del C1 inhibidor: 70% - 130% de actividad frente al suero control

VALORES CRÍTICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El déficit genético del gen que codifica al C1 inhibidor es muy infrecuente. Los niveles de C4 en suero son muy útiles como "screening" de esta enfermedad ya que en el caso de angioedema hereditario se esperarían unos niveles muy bajos.

Los niveles de C1q en suero son útiles para diagnosticar el angioedema adquirido, ya que en esta enfermedad la concentración de C1q es baja.

La confirmación del angioedema hereditario debe hacerse mediante un estudio genético.

Angioedema hereditario

Tipo I (85% de los casos):

C4 ↓

C1 Inhibidor ↓

Tipo II (15% de los casos)

C4 ↓

C1 Inhibidor Normal

En ambos casos la **actividad funcional del C1 Inhibidor ↓** (pero **C1qNormal**)

Angioedema adquirido

C4 ↓ C1 Inhibidor ↓ actividad funcional C1 inh ↓ (pero **C1q ↓**)

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunoproteínas: Máximo 8 días en el caso de no precisarse el estudio de la actividad funcional del C1 Inhibidor.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gompels MM, Lock RJ, Albinun M et al. C1 inhibitor deficiency: consensus document. Clin Exp Immunol 2000;139:279-94.
2. Lopez Trascasa M. La deficiencia del inhibidor de C1: diagnóstico diferencial y molecular. Allergol Immunol Clin 2000;154-159.
3. Zuraw BL. Hereditary Angioedema. N Engl J Med 2008;359:1027-36.

FACTOR REUMATOIDE

INFORMACIÓN CLÍNICA

El factor reumatoide consiste en anticuerpos que reconocen la fracción constante (Fc) de las IgG propias. Generalmente son anticuerpos de isotipo IgM, aunque también pueden ser IgG e IgA. El factor reumatoide puede detectarse en hasta el 80% de los pacientes con artritis reumatoide. Estos pacientes suelen sufrir formas más severas de la enfermedad.

UTILIDAD CLÍNICA

Evaluación de pacientes con sospecha de artritis reumatoide.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

La cuantificación del factor reumatoide se realiza mediante turbidimetría. En esta técnica se añade a la muestra de suero un anticuerpo específico frente a la proteína que queremos detectar. El anticuerpo se añade en unas condiciones en las que la unión con su proteína va a producir una inmunoprecipitación en fase líquida. Cuando se aplica una luz a la muestra, el inmunoprecipitado va a dispersarla. La luz dispersada por estos inmunocomplejos solubles provoca la pérdida de la luz transmitida, que se mide mediante células fotoeléctricas como densidad óptica. La cantidad de transmitida es inversamente proporcional a la concentración de proteína en suero.

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere preparación especial.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre sin anticoagulante. (Contenedor): Tubo de tapón rojo.

VALORES DE REFERENCIA

<14 kU/L.

VALORES CRÍTICOS

No aplica.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El factor reumatoide es un marcador muy inespecífico ya que aparece en numerosas enfermedades autoinmunes e infecciosas como en el síndrome de Sjögren, crioglobulinemia mixta, Lupus eritematoso sistémico, hepatitis vírica, etc.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunoproteínas: Máximo 3 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Johnson PM and Faulk WP. Rheumatoid Factor: Its nature, specificity and production in rheumatoid arthritis. Clin Immunol Immunopathol 1976;6:414-40.
2. Roberts-Thomson PJ, McEvoy r, Langhans t, Bradley J. Routine quantification of rheumatoid factor by rate nephelometry. Ann Rheum Dis 1985;44:379-83.

IgE ESPECÍFICA

INFORMACIÓN CLÍNICA

La inmunoglobulina E tiene un papel fundamental en la alergia. Para que se produzca una reacción alérgica tienen que producirse anticuerpos de tipo IgE específicos frente a alérgenos, que son sustancias inocuas del medio ambiente. Estos anticuerpos activan a los mastocitos, los cuales en presencia del alérgeno liberan histamina y otras sustancias que causan los síntomas propios de la alergia.

Para confirmar el diagnóstico clínico de la alergia se pueden realizar una combinación de pruebas de provocación *in vivo* junto con pruebas de laboratorio *in vitro*, con las cuales se intenta confirmar la existencia de las reacciones de hipersensibilidad típicas de la alergia y la identificación de los alérgenos para poder evitarlos o si es posible realizar inmunoterapia.

Las pruebas *in vitro* consisten en la determinación cuantitativa de la IgE que hay en el suero. Se puede cuantificar la IgE total o la IgE específica. En este último caso se cuantifica la IgE que reconoce un alérgeno específico. Actualmente se dispone de sistemas para detectar IgE frente a más de 650 alérgenos diferentes. La determinación de las IgE específicas circulantes permite una valoración objetiva de la sensibilización a un alérgeno específico. Así, unos niveles altos indican la existencia de una enfermedad alérgica, mientras que los niveles bajos se observan cuando los síntomas de la enfermedad son bajos. Al dar unos resultados cuantitativos, los estudios *in vitro* de la IgE específica permiten, además de estudiar los antígenos causantes, estudiar la evolución de la enfermedad y tener indicaciones claras para el tratamiento. Por otra parte es un método muy seguro ya que para el análisis se utiliza el suero del enfermo, de modo que no existen los riesgos que se dan en las pruebas *in vitro*.

UTILIDAD CLÍNICA

Evaluación de pacientes con sospecha de alergia para establecer el diagnóstico y para identificar de los alérgenos que provocan la enfermedad.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

Fluoroenzimoinmunoanálisis basado en la tecnología ImmunoCAP. Los antígenos de interés están unidos covalentemente a una matriz sobre la cual se añade el suero del paciente. Si el suero tiene anticuerpos IgE específicos frente al antígeno se unen a él. Tras un lavado se añaden anticuerpos marcados enzimáticamente frente a la región constante de la IgE. Tras la incubación y un lavado se añade un revelador fluorescente. La fluorescencia producida es directamente proporcional a la concentración de IgE específica de la muestra.

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre sin anticoagulante. (Contenedor): Tubo de tapón rojo.

VALORES DE REFERENCIA

Clases de RAST	Rango (kU/l)	Niveles IgE Específicos:
Clase 0	<35	Indetectables
Clase 1	0,35 – 0,70	Bajo
Clase 2	0,70 – 3,50	Moderado
Clase 3	3,50 – 17,50	Alto
Clase 4	17,50 – 50	Elevado
Clase 5	50 – 100	Muy elevado

VALORES CRITICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- No hay una correlación total entre los niveles de IgE específica y la severidad de la reacción alérgica por lo que los resultados sólo pueden interpretarse teniendo en cuenta la historia clínica.
- Los anticuerpos IgE específicos se miden en un intervalo de 0 a 100 kUA/l. Normalmente se utiliza 0,35 kUA/l como punto de corte. Niveles mayores que este no necesariamente significa que se sufra alergia, ya que estos anticuerpos se pueden detectar en una fase temprana antes de que aparezcan los síntomas clínicos. Por otra parte los niveles bajan cuando se evita el contacto con el alérgeno durante largo tiempo, por lo cual se pueden obtener resultados negativos incluso en pacientes sensibilizado.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunoproteínas: Máximo 10 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hamilton RG and Adkinson NF. Clinical laboratory assessment of IgE-dependent hypersensitivity. J Allergy Clin Immunol 2003;111:S687-701

LISTA DE ALÉRGENOS DISPONIBLES

ALIMENTOS – FRUTAS Y VERDURAS

f47 Ajo (*Allium sativum*)
f44 Fresa (*Fragaria vesca*)
f328 Higo (*Ficus carica*)
f84 Kiwi (*Actinidia chinensis*)
f208 Limón (*Citrus limon*)
f302 Mandarina (*Citrus reticulata*)
f49 Manzana (*Malus doméstica*)
f95 Melocotón (*Prunus persica*)
f87 Melón (*Cucumis melo*)
f33 Naranja (*Citrus sinensis*)
f35 Patata (*Solanum tuberosum*)
f218 Pimentón (*Capsicum annuum*)
f92 Plátano (*Musa spp.*)
f239 Sandía (*Citrullus lanatus*)
f25 Tomate (*Lycopersicon lycopersicum*)
f259 Uva (*Vitis vinifera*)
f31 Zanahoria (*Dacus carota*)

ALIMENTOS – SEMILLAS, LEGUMBRES Y FRUTOS SECOS

f20 Almendra (*Amygdalus communis*)
f9 Arroz (*Oryza sativa*)
f7 Avena (*Avena sativa*)
f13 Cacahuete (*Arachis hypogaea*)
f299 Cataña (*Castanea sativa*)
f6 Cebada (*Hordeum vulgare*)
f5 Centeno (*Secale cereale*)
f309 Garbanzo (*Cicer arietinus*)
f79 Gluten
f12 Guisante (*Pisum sativum*)
f15 Judía blanca (*Phaseolus vulgaris*)
f235 Lenteja (*Lens esculenta*)
f8 Maíz (*Zea mays*)
f256 Nuez de nogal (*Juglans spp.*)
f253 Piñón (*Pinus edulis*)
f203 Pistacho (*Pistacia vera*)
f333 Linaza-Semilla de lino (*Linum usitatissimum*)
f10 Semilla de sésamo
f14 Soja (*Gycine max*)
f4 Trigo (*Triticum aestivum*)

ALIMENTOS – MISCELÁNEOS

f93 Cacao (*Theobroma cacao*)
f221 Café (*Coffea spp.*)
f45 Levadura (*Saccharomyces cerevisiae*)

f247 Miel

ALIMENTOS – PESCADOS, MARISCOS Y MOLUSCOS

f207 Almeja (*Ruditapes spp*)
f313 Anchoa (*Engraulis encrasicolus*)
f40 Atún (*Thunnus albacares*)
f3 Bacalao (*Gadus morhua*)
f58 Calamar (*Tadareore pacificus*)
f320 Cangrejo de río
f303 Fletán/Halibut (*Hippoglossus hippoglossus*)
f311 Gallo (*Lepidohombus whiffiagonis*)
f24 Gamba – Camarón (*Pandalus borealis*)
f337 Lenguado (*Solea solea*)
f37 Mejillón (*Mytilus edulis*)
f307 Merluza (*Merluccius merluccius*)
f290 Ostra (*Ostrea edulis*)
f312 Pez espada (*Xiphias gladius*)
f59 Pulpo (*Octopus vulgaris*)
f41 Salmón (*Salmo salar*)
f308 Sardina (*Sardina pilchardus*)

ALIMENTOS – MULTI

fx2 Mezcla de pescados

ALIMENTOS – HUEVO Y DERIVADOS

f1 Clara de huevo
f323 Conalbúmina/Ovotransferrina nGal d 3
f232 Ovoalbúmina
f233 Ovomucoide
f75 Yema de huevo

ALIMENTOS – LECHE Y DERIVADOS

f76 Alfa-lactoalbúmina de leche de vaca
f77 Beta-lactoalbúmina de leche de vaca
f78 Caseína de leche de vaca
f300 Leche de cabra
f325 Leche de oveja
f2 Leche de vaca

ALIMENTOS – CARNES

f26 Carne de cerdo (*Sus ssp.*)
f284 Carne de pavo (*Meleagris gallopavo*)
f83 Carne de pollo (*Gallus ssp.*)
f27 Carne de ternera (*Bos ssp.*)

ALIMENTOS – ESPECIAS

f89 Mostaza (*Brassica/Sinapis spp.*)

PÓLENES DE GRAMÍNEAS

g5 Ballico (*Lolium perenne*)
g3 Grama (*Dactilis glomerata*)
g2 Grama Mayor (*Cynodon dactylon*)
g8 Poa pratense - Espiguilla (*Poa patensis*)
g6 Timotea (*Phleum pratense*)

PÓLENES DE GRAMÍNEAS - MULTI

gx1 Mezcla de gramíneas

PÓLENES DE ÁRBOLES

t3 Abedul (*Betula verrucosa*)
t4 Avellano (*Corylus avellana*)
t23 Ciprés (*Cupressus sempervirens*)
t18 Eucalipto (*Eucalyptus spp.*)
t15 Fresno (*Fraxinus excelsor*)
t16 Pino (*Pinus strobus*)
t11 Plátano (*Platanus acerifolia*)

PÓLENES DE ÁRBOLES – MULTI

tx8 Mezcla polen árboles

PÓLENES DE MALEZAS

w6 Artemisa (*Artemisa vulgaris*)
w8 Diente de león (*Taraxacum vulgare*)
w9 Llantén (*Plantago lanceolata*)
w19 Parietaria (*Parietaria officinalis*)

PÓLENES DE MALEZAS – MULTI

wx1 Mezcla de pólenes de malezas

EPITELIOS Y PROTEÍNAS ANIMALES

e3 Caballo (caspa)
e201 Canario (plumas)
e1 Caspa de gato
e4 Caspa de vaca
e5 Caspa de perro
e83 Cerdo (epitelio)
e6 Cobaya (epitelio)
e82 Conejo (epitelio)
e81 Oveja (epitelio)
e215 Paloma (plumas)
e77 Periquito (excrementos)
e78 Periquito (plumas)
e218 Pollo (excremento)
e85 Pollo (plumas)

e219 Pollo (proteínas séricas)
e84 Hámster (epitelio)
e71 Ratón (epitelio)
ex1 Mezcla de epitelios

ÁCAROS

d202 Blomia tropicalis
d1 Dermatophagoides pteronyssimus
d2 Dermatophagoides farine
d73 Glycyphagus domesticus
d71 Lepidoglyphus destructor
d72 Tyrophagus putrescentiae

INSECTOS

i71 Mosquito común (*Aedes communis*)
i6 Cucaracha alemana (*Blata germanica*)
i206 Cucaracha Americana (*Periplaneta americana*)
i207 Cucaracha oriental (*Blatta orientalis*)
i204 Tábano (*Tabanus spp.*)

VENENOS DE INSECTOS

i1 Veneno de Abeja (*Apis mellifera*)
i4 Veneno de avispa papelera (*Polistes spp.*)
i77 Veneo de avispa papelera europea (*Polistes dominulus*)
i3 Veneno de Avispa

PARÁSITOS

p4 Anisakis
p1 Ascaris

MOHOS Y OTROS MICROORGANISMOS

m6 Alternaria alternata
m3 Aspergillus fumigatus
m207 Aspergillus niger
m5 Candida albicans
m2 Cladosporium herbarum
m4 Mucor racemosus
m1 Penicilium notatum
m11 Rhizopus nigricans

MOHOS Y OTROS MICROORGANISMOS - MULTI

mx1 Mezcla de mohos

OCUPACIONALES

k86 Alfa amilasa
k75 Isocianato TDI (Tolueno diisocianato)

k76 Isocianato MDI (Difenilmetano diisocianato)
k77 Isocianato HDI (Hexametileno diisocianato)
k78 Óxido de etileno
K82 Látex (*Hevea brasiliensis*)
k84 Semilla de girasol

FÁRMACOS

c1 Penicilina G
c2 Penicilina V
c5 Ampicilina
c6 Amoxicilina
c8 Clorhexidina
c202 Suxamentonio (succinilcolina)

ALERGIA MOLECULAR

Avellana (*Corylus avellana*)

f428 rCor a 1; PR-10
f425 rCor a 8; LTP

Bacalao (*Gadus morhua*)

f426 rGad c 1; Parvalbúmina

Cacahuete (*Arachis hypogaea*)

f352 rAra h 8; PR-10
f427 rAra h 9; LTP

Carpa (*Cyprinus carpio*)

f355 rCyp c1; Parvalbúmina

Leche de vaca (Boss spp.)

Melocotón (*Prunus persica*)

f419 rPru p 1; PR-10
f420 rPru p 3; LTP

Trigo (*Triticum spp.*)

f416 rTri a 19; Omega-5 Gliadina

Hierba timotea (*Phleum pratense*)

g205 rPhl p1
g215 rPhl p 5b
g210 rPhl p7 Polcalcina
g212 rPhL p 12 Profilina

Abedul común (*Betulla verrucosa*)

t215 rBet v 1 Pr-10

Ácaros

d202 nDer p 1
d203 rDer p 2
d205 rDer p 10

Latex (*Hevea brasiliensis*)

k215 rHerb 1
k220 rHev b 6.02
m229 rAlt a 1

IgE TOTAL

INFORMACIÓN CLÍNICA

La inmunoglobulina E tiene un papel fundamental en la alergia. Para que se produzca una reacción alérgica tienen que producirse anticuerpos de tipo IgE específicos frente a alérgenos, que son sustancias inocuas del medio ambiente. Estos anticuerpos activan a los mastocitos, los cuales en presencia del alérgeno liberan histamina y otras sustancias que causan los síntomas propios de la alergia.

Para confirmar el diagnóstico clínico de la alergia se pueden realizar una combinación de pruebas de provocación *in vivo* junto con pruebas de laboratorio *in vitro*, con las cuales se intenta confirmar la existencia de las reacciones de hipersensibilidad típicas de la alergia y la identificación de los alérgenos para poder evitarlos o si es posible realizar inmunoterapia.

Las pruebas *in vitro* consisten en la determinación cuantitativa de la IgE que hay en el suero. Se puede cuantificar la IgE total o la IgE específica. La cuantificación de la IgE total mide la concentración de toda la IgE que hay en el suero independientemente de su especificidad. En un adulto sano la cantidad de IgE total es muy baja (0,0005% de la concentración de todas las inmunoglobulinas) y normalmente su concentración se expresa en kU/L, siendo 1kU/L aproximadamente 2.4 µg/L. Unos niveles elevados indican que una persona puede ser atópica y en el caso de un paciente sintomático (con eczema, asma, rinitis, urticaria, etc) nos indica que una etiología alérgica.

UTILIDAD CLÍNICA

Evaluación de pacientes con sospecha de alergia para establecer el diagnóstico.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

Fluoroenzimoinmunoanálisis basado en la tecnología ImmunoCAP. Consiste en un inmunoensayo diseñado en sandwich. Se unen anticuerpos anti-IgE a una matriz sobre la cual se añade el suero del paciente. Si el suero tiene proteínas IgE estas se unen a los anticuerpos unidos a la matriz. Tras un lavado se añaden anticuerpos marcados enzimáticamente frente a la región constante de la IgE, los cuales se unen a una zona distinta que los que están pegados a la matriz. Tras la incubación y un lavado se añade un revelador fluorescente. La fluorescencia producida es directamente proporcional a la concentración de IgE específica de la muestra.

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre sin anticoagulante. (Contenedor): Tubo de tapón rojo.

VALORES DE REFERENCIA

Edad	kU/L
<3 meses	0 - 2,3
3-5 meses	0 - 4,1
6-8 meses	0 - 7,3
9-11 meses	0 - 10
1 año	0 - 13
2 años	0 - 23
3 años	0 - 32
años	0 - 40
5 años	0 - 48
6 años	0 - 56

7 años	0 - 63
8 años	0 - 71
9 años	0 - 78
10-18	0 - 85
>18	0 - 127

VALORES CRITICOS

No aplica.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- Deben de interpretarse los resultados de la IgE total junto con la historia clínica.
- Unos niveles normales de IgE no descartan que el paciente no sea alérgico o que el paciente tenga niveles detectables de IgE específica para algún alérgeno.
- En pacientes asmáticos niveles mayores de 150 kU/L sugieren que la enfermedad tiene una base alérgica, mientras que niveles <20 kU/L sugieren lo contrario.
- En las dermatitis es frecuente encontrar niveles >400 kU/L.
- Se pueden observar niveles muy altos en el eczema atópico, en la aspergilosis broncopulmonar alérgica, parasitosis, linfoma (especialmente linfoma de Hodgkin) y enfermedades hepáticas.
- Pueden encontrarse niveles elevados en otras enfermedades no alérgicas como en infecciones por EBV , síndrome de Churg-Strauss, esclerosis sistémica y algunas inmunodeficiencias como el síndrome de Wiskott-Aldreich o el síndrome de Omenn
- Los niveles más altos de IgE se observan en el síndrome de hiper-IgE (síndrome de Job).

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunoproteínas: Máximo 10 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hamilton RG and Adkinson NF. Clinical laboratory assessment of IgE-dependent hypersensitivity. J Allergy Clin Immunol 2003;111:S687-701

IgG ESPECÍFICA

INFORMACIÓN CLÍNICA

La aparición de anticuerpos IgG específicos frente a sustancias extrañas es algo que ocurre de forma natural durante la inmunidad adaptativa. Estos anticuerpos son útiles en la eliminación de patógenos. Sin embargo, ya en los niños, desde muy temprano, empiezan a aparecer anticuerpos IgG frente a muchas sustancias inocuas, por ejemplo frente a alimentos. Estos anticuerpos no tienen aparentemente ninguna función de defensa y sirven simplemente como marcadores de exposición. Hay casos, sin embargo, en que la detección de anticuerpos IgG específicos tiene interés clínico, por ejemplo como marcador de exposición en determinadas neumopatías o en el control de determinados tratamientos inmunológicos de desensibilización en alergias.

La alveolitis alérgica extrínseca (AAE) es una enfermedad intersticial difusa ocasionada por la inhalación de determinados antígenos de origen orgánico, como por ejemplo proteínas de origen vegetal, animal o de microorganismos y en muchos casos son enfermedades ocupacionales. El pulmón de granjero y la enfermedad del pulmón del cuidador de aves son dos AAE frecuentes. En estas enfermedades pueden estar implicados hongos como por ejemplo *Aspergillus*. La presencia de anticuerpos IgG específicos frente a estos antígenos son útiles como un marcador de exposición.

La determinación de IgG específica también es útil en la monitorización de la inmunoterapia, ya que el aumento de sus niveles indica una respuesta a la terapia y un mejor pronóstico.

UTILIDAD CLÍNICA

Como marcador de exposición en determinadas enfermedades neumológicas como alveolitis, aspergiloma y aspergilosis.

Monitorización de la inmunoterapia como indicador de respuesta y de buen pronóstico.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

La prueba se realiza con el equipo ImmunoCAP. Los antígenos de interés están unidos a una matriz, la cual se incuban con el suero de paciente. En el caso que el suero contenga anticuerpos IgG específicos éstos se unirán a los antígenos. Tras un lavado se añaden anticuerpos frente a las IgG marcados con un enzima y se incuban. Se vuelve a lavar y se añade un compuesto que, por medio del enzima, genera un producto fluorescente que queda en el fluido. Cuanto más elevada sea la fluorescencia más anticuerpo IgG específico habrá en la muestra.

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre sin anticoagulante. (Contenedor): Tubo de tapón rojo.

VALORES DE REFERENCIA

No existen valores de corte ya que son marcadores de exposición a antígenos.

VALORES CRÍTICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- El estudio de la IgG específica en muchos casos no tiene ningún valor, por ejemplo la determinación de IgG específicas frente a alimentos en el diagnóstico de la alergia alimentaria, ya que simplemente indican exposición.

- En las enfermedades respiratorias causadas por la exposición a determinados compuestos orgánicos, como la alveolitis alérgica extrínseca, el diagnóstico se basa en los síntomas típicos de la enfermedad y en la evidencia de la exposición al antígeno.
- En la monitorización de la inmunoterapia se debe valorar la variación en la concentración de la IgG específica.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunoproteínas: Máximo 10 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Golden DBK, Lawrence ID, Hamilton RH, Kagey-Sobotka A, Valentine MD, Lichtenstein LM. Clinical correlation of venom-specific IgG antibody level during maintenance venom immunotherapy. J Allergy Clin Immunol 1992;90:386-93.

INMUNOFIJACIÓN EN SUERO Y ORINA

INFORMACIÓN CLÍNICA

Las gammapatías monoclonales se caracterizan por la proliferación de un único clon de células plasmáticas que produce un único anticuerpo. A este anticuerpo monoclonal se le denomina paraproteína o proteína M. La proteína M puede ser de cualquier isotipo (IgG, IgA, IgM, IgD o IgE). El clon monoclonal de células plasmáticas, además de producir grandes cantidades del anticuerpo completo, también libera cadenas ligeras monoclonales. La cadena ligera monoclonal puede ser kappa o lambda, dependiendo de la cadena ligera que esté presente en la proteína M.

Las manifestaciones clínicas que pueden aparecer en los pacientes con gammapatías monoclonales se deben en parte a la ocupación de las células plasmáticas de la médula ósea (anemia, dolor óseo, hipercalcemia) y al efecto que tienen las cadenas ligeras libres sobre el riñón (daño renal).

La paraproteína puede detectarse mediante un proteinograma en suero o en orina. En suero aparece como un pico en la zona gamma. En orina puede aparecer un pico correspondiente a la cadena ligera libre. Tras el proteinograma hay que realizar una caracterización del componente monoclonal (tipo de cadena ligera y pesada). Una vez realizado esto, el seguimiento debe hacerse simplemente mediante proteinograma, a no ser que se detecte cambios en el patrón del mismo (desaparición del pico o aparición de nuevos picos) en cuyo caso hay que repetir la inmunofijación. Hay otras situaciones en las que es necesario repetir la inmunofijación, e incluso realizar la cuantificación de las cadenas ligeras libres, como por ejemplo para la determinación de la remisión total.

UTILIDAD CLÍNICA

Diagnóstico en pacientes con sospecha gammapatía monoclonales.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

Se realiza una electroforesis en un gel de agarosa sobre un soporte de plástico. Las muestras migran según su masa y su carga. Para cada muestra se realizan 6 electroforesis en el mismo gel. Posteriormente cada electroforesis se tiñe con un colorante inespecífico para proteínas y con antisueños frente a las cadenas IgG, IgA, IgE, kappa y lambda. Finalmente se realiza una tinción del gel. Se espera que en una muestra aparezca banda en una de las calles correspondientes a las cadenas pesadas y otra en las correspondientes a las cadenas ligeras. En el caso que sólo aparezca una banda kappa o lambda se debe realizar otra inmunofijación en la que se incluya un antisuero para la cadena pesada IgD.

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Inmunofijación en suero: Sangre sin anticoagulante. (Contenedor): Tubo de tapón rojo.

Inmunofijación en orina: Orina de 24 horas concentrada.

VALORES DE REFERENCIA

Negativo

VALORES CRÍTICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Para la determinación de las gammapatías monoclonales hay que realizar varias pruebas complementarias entre las que se encuentran la inmunofijación en suero y orina.

Para la detección de pacientes con mieloma múltiple lo más recomendable es la realización en suero de un proteinograma y la determinación de las cadenas ligeras libres en suero ya que con la combinación de estas dos pruebas se obtiene una sensibilidad del 100%.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunoproteínas: Máximo 8 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bradwell AR, et al. Assessment of Monoclonal gammopathies by Nephelometric Measurement of Individual Immunoglobulin κ/λ ratios. Clin Chem 2009;55:1946-55.
2. Dimopoulos M, et al. Consensus recommendations for standard investigative wokup: report of the International Myeloma workshop consensus Panel 3. Blood 2011;117:4701-5.
3. Smith A, et al. Guidelines on the diagnosis and management of multiple myeloma. Br J Hematol 2005;132:410-51.

PRECIPITINAS

INFORMACIÓN CLÍNICA

La neumonitis por hipersensibilidad o alveolitis alérgica extrínseca es una enfermedad inflamatoria del pulmón que se produce tras la exposición reiterada a concentraciones bajas de diversos agentes orgánicos, tales como hongos (entre otros *Aspergillus fumigatus* y *Micropolyspora faeni*), bacterias, proteínas animales, etc. La prevalencia de esta enfermedad oscila entre un 5-10% de los sujetos expuestos a estas sustancias orgánicas. Por las características de estos compuestos, en muchos casos la exposición se produce en el medio laboral, como en el "pulmón de granjero" o en neumonitis en cuidadores de aves.

UTILIDAD CLÍNICA

Diagnóstico en pacientes con sospecha de neumonitis por hipersensibilidad inducida por la exposición a *Aspergillus fumigatus*, y *Micropolyspora faeni*.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

Se realiza mediante la técnica de difusión doble en geles de agarosa. El suero del paciente y los antígenos solubles se colocan en pocillos adyacentes realizados en el gel. Se deja que difundan uno frente al otro varios días y posteriormente se observa si aparecen líneas de precipitación en los casos positivos, cuando la concentración relativa de suero y antisuero es óptima. Se realiza una tinción con Azul de Coomassie para aumentar la sensibilidad de la técnica.

En el Servicio de Inmunología detectamos precipitinas frente a:

- *Aspergillus fumigatus* somático
- *Aspergillus fumigatus* metabólico
- *Aspergillus flavus*
- *Aspergillus nidulans*
- *Aspergillus niger*
- *Aspergillus terreus*
- *Candida albicans*
- *Micropolyspora faeni*
- Suero de palomas
- Suero de periquito
- Excremento de paloma
- Excremento de periquito
- Suero de pollo

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre sin anticoagulante. (Contenedor): Tubo de tapón rojo.

VALORES DE REFERENCIA

Negativo.

VALORES CRÍTICOS

No aplica.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

La presencia de anticuerpos precipitantes (precipitinas) frente al agente causal puede ayudar en el diagnóstico. Sin embargo, su detección no implica necesariamente la existencia de la enfermedad ya que se detectan en hasta el 50% de las personas expuestas asintomáticas.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunoproteínas: Máximo 15 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kaufman L. Serodiagnosis of fungal diseases, In Manual of clinical Immunology, Eds. Rose NR and Friedman H. pp 363-81. American Society for Microbiology, Washington DC. 1976.
2. Longbottom JL, Pepys J. Pulmonary Aspergillosis: Diagnostic and immunological significance of antigens and C-substance in *Aspergillus Fumigatus*. J Pathol Bacteriol 1967;88:141-51.

TRIPTASA

INFORMACIÓN CLÍNICA

La triptasa es la proteína más abundante de las que se encuentran en los gránulos de los mastocitos. Se libera inmediatamente después de que estas células son estimuladas durante las reacciones alérgicas, por lo que se usa como marcador de la activación de los mastocitos. La triptasa también puede usarse como marcador en la mastocitosis sistémica y de determinadas enfermedades hematológicas relacionadas con los mastocitos.

Una determinada persona tiene unos niveles basales de triptasa, cuyo origen es la liberación espontánea de proteína a la circulación. Unos niveles basales altos y persistentes pueden ser marcadores de una mastocitosis sistémica. En pacientes con antecedentes graves de reacciones anafilácticas, por ejemplo en los producidos por la picadura de insectos, a veces se presentan unos niveles basales elevados de triptasa. Esto indica un mayor riesgo de que se produzcan reacciones anafilácticas graves. Esto importante en los casos en los que se plantee realizar inmunoterapia con veneno.

La medición de la triptasa que se produzca por los mastocitos durante las reacciones alérgicas es útil en el diagnóstico de las reacciones anafilácticas sistémicas. Durante estas reacciones se alcanza una concentración máxima de tripsina a los 15-120 minutos desde el comienzo de la reacción, disminuyendo lentamente en las horas siguientes. Los niveles basales se suelen alcanzar a las 24 horas

UTILIDAD CLÍNICA

Evaluación de pacientes con sospecha de reacción anafiláctica, detección de pacientes con mayor riesgo de sufrir una reacción grave anafiláctica, diagnóstico y seguimiento de pacientes con mastocitosis sistémica.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

Fluoroenzimoinmunoanálisis basado en la tecnología ImmunoCAP. Los anticuerpos antitripsina unidos a una matriz reaccionan con la tripsina presente en la muestra de suero del paciente.

Tras un lavado se añaden anticuerpos marcados enzimáticamente frente a la tripsina. Tras la incubación y un lavado se incuba con un revelador fluorescente. La fluorescencia producida es directamente proporcional a la concentración de triptasa.

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere preparación especial.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre sin anticoagulante. (Contenedor): Tubo de tapón rojo.

En el caso de sospecha de anafilaxis la muestra debe obtenerse entre 15 min y dos horas siguientes a la reacción. La muestra que se vaya a procesar en el día se puede mantener a temperatura ambiente. Se puede mantener a 2 - 8°C durante un máximo de una semana o bien conservar a -20°C. Para confirmar que se ha retornado a niveles basales la muestra debe obtenerse después de que hayan pasado 24 - 48 horas tras la reacción anafiláctica.

VALORES DE REFERENCIA

Suero < 11,4 µg/l.

VALORES CRÍTICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los niveles basales son variables entre distintos individuos, aunque en una misma persona es muy estable en condiciones normales. En pacientes con sospecha de anafilaxia se espera encontrar un aumento brusco de la concentración de tripsina que vuelve a su concentración normal en 24 - 48 horas.

En pacientes con mastocitosis sistémica se observan concentraciones elevadas persistentes que pueden llegar a superar los 1000 µg/l.

En pacientes con mayor riesgo de sufrir reacciones graves anafilácticas suele observarse niveles basales de tripsina de 10 - 20 µg/l.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunoproteínas: Máximo 15 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Schuartz LB. Diagnostic value of tryptase in anaphylaxis and mastocytosis. Immunol Allergy Clin N Am 2006;26:451-63.
2. Valent P. Diagnostic evaluation and classification of mastocytosis. Immunol Allergy Clin N Am 2006;26:515-34.

FARMACOGENÓMICA DE LA TOXICIDAD POR ABACAVIR (HLA-B*57:01).

INFORMACIÓN CLÍNICA

El abacavir es un inhibidor de la transcriptasa inversa utilizado de forma preferente en la terapia por infección del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). En la mayoría de los casos su utilización transcurre sin complicaciones de trascendencia, pero en un porcentaje significativo (5-12%) de los pacientes se ha detectado una reacción de hipersensibilidad a abacavir como efecto adverso a su administración, lo que limita su uso en terapia antirretroviral y requiere un alto grado de vigilancia clínica. En los casos de hipersensibilidad, podría darse un incremento de su perfil de toxicidad, consistente en un incremento muy notable del riesgo de infarto agudo de miocardio, según la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS).

La reacción de hipersensibilidad aparece generalmente durante las primeras 6 semanas de tratamiento con abacavir y se caracteriza por la aparición de fiebre y erupciones, síntomas gastrointestinales (náuseas, vómitos, diarrea y dolor abdominal), disnea, mialgia, dolor osteomuscular, cefalea, etc. Estos síntomas empeoran en caso de continuar con el tratamiento y suelen cesar en caso de interrumpirlo. El problema reside en que los síntomas de la reacción de hipersensibilidad a abacavir son poco específicos y pueden resultar difíciles de distinguir frente a infecciones o reacciones a otras drogas habitualmente empleadas para la terapia de VIH, lo que puede resultar en falsos diagnósticos si este se ha llevado a cabo únicamente por los factores clínicos (fenotípicos).

El desarrollo de reacciones de hipersensibilidad se encuentra relacionado con algunas proteínas del MHC (Complejo Principal de Histocompatibilidad), codificadas por unos genes estrechamente ligados y muy polimórficos, es decir, genes con un elevado número de variantes alélicas en cada locus. En el caso de las reacciones de hipersensibilidad a abacavir se ha determinado que el alelo HLA-B*57:01 puede predecir de forma significativa el riesgo de hipersensibilidad a abacavir.

UTILIDAD CLÍNICA DEL ESTUDIO GENÉTICO

Los métodos de biología molecular desarrollados para la detección del alelo HLA-B*57:01 nos permiten una predicción o una confirmación del diagnóstico clínico sin necesidad de reintroducir el fármaco en el paciente, evitando con ello todos los posibles problemas asociados a su hipersensibilidad. De esta manera, podría determinarse qué pacientes no deberían recibir un tratamiento con abacavir de forma previa a su administración.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

- Obtención de DNA genómico.
- Genotipado del locus HLA-B* por PCR-SSOr y posterior revelado mediante la tecnología X-Map de Luminex.
- Análisis de los resultados obtenidos. Ante un HLA-B*57 positivo se completará el análisis mediante NGS (Secuenciación de nueva generación).

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre extraída con EDTA como anticoagulante (5ml en tubo de tapón morado).

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial.

VALORES DE REFERENCIA

No existen valores de corte ya que son marcadores genéticos.

VALORES CRÍTICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El resultado se informa como HLA-B*57:01 positivo o negativo.

Si el paciente es portador del alelo HLA-B*57:01 el tratamiento con abacavir está totalmente contraindicado.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Histocompatibilidad: Máximo 20 días.

BIBLIOGRAFIA

1. Saag M, et al. High sensitivity of human leukocyte antigen-b*5701 as a marker for immunologically confirmed abacavir hypersensitivity in white and black patients. Clin Infect Dis. 2008;46(7):1111-8.
2. Deshpande P, Hertzman RJ, Palubinsky AM, Giles JB, Karnes JH, Gibson A, Phillips EJ. Immunopharmacogenomics: Mechanisms of HLA-Associated Drug Reactions. Clin Pharmacol Ther. 2021 Sep;110(3):607-615
3. Quiros-Roldan E, Gardini G, Properzi M, Ferraresi A, Carella G, Marchi A, Malagoli A, Focà E, Castelli F. Abacavir adverse reactions related with HLA-B*57: 01 haplotype in a large cohort of patients infected with HIV. Pharmacogenet Genomics. 2020 Oct;30(8):167-174.

ESTUDIO GENÉTICO DE LA ARTRITIS REUMATOIDE.

INFORMACIÓN CLÍNICA

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad inflamatoria y sistémica que, aunque se caracteriza fundamentalmente por provocar inflamación crónica y deterioro progresivo de las articulaciones diartrodiales, puede ocasionar manifestaciones extraarticulares y comorbilidad asociada.

Es una enfermedad de distribución universal, con una prevalencia del 0,3-1,2% (en nuestro país, 0,5%) y una incidencia anual de 0,03%. Produce discapacidad, disminución de la calidad de vida de la esperanza de vida y un aumento de la mortalidad en los pacientes que la padecen, con tasas de mortalidad estandarizada entre 1 y 2.

Es más frecuente en mujeres que en hombres (7:1). La edad de inicio de la artritis reumatoide se halla entre los 25 y los 50 años; aumenta la incidencia con la edad. Los pacientes con artritis reumatoide tienen una expectativa de vida acortada y presentan invalidez en el 10-15% de los casos en 20 años. Se ha planteado la importancia hormonal ya que las mujeres embarazadas tienen disminución de los síntomas de artritis reumatoide, que aparecen 1 mes tras el parto.

La etiología de la AR sigue siendo desconocida. Las teorías más recientes sugieren que, en un huésped susceptible, la inflamación sinovial puede ser iniciada por mecanismos no antígeno específicos de la inmunidad innata que, posteriormente derivarían en respuestas autoinmunes de la inmunidad adaptativa, mantenida por autoantígenos articulares o sistémicos. La célula T activada interacciona con otras células a través de la producción de citocinas Th1 y de la expresión de moléculas de adhesión y coestimuladoras. El resultado es la producción predominante de citocinas proinflamatorias y quimioquinas que orquestan múltiples interacciones entre el endotelio, las células infiltrantes (macrófagos, linfocitos T y B), las células residentes (sinoviocitos tipo fibroblasto y macrófágicos) y la matriz extracelular. Estas interacciones desencadenan múltiples respuestas celulares que mantienen los mecanismos efectores. La neovascularización y los defectos en la apoptosis permiten la hiperplasia de sinoviocitos activados (formación del pannus) que, a través de la producción de metaloproteasas, invaden el cartílago y el hueso. La acción de factores solubles y de interacciones celulares a través del sistema RANK/RANKL/OPG determina la activación de los osteoclastos responsables de la reabsorción ósea.

El principal grupo de genes que predisponen a esta enfermedad se localiza en el cromosoma 6 humano, específicamente en 6p21. Esta región cromosómica contiene un gran "cluster" o agrupación de genes llamado Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC).

UTILIDAD CLÍNICA DEL ESTUDIO GENÉTICO

Aunque es lógico considerarla una enfermedad poligénica, la artritis reumatoide se ha asociado principalmente con dos variantes alélicas de HLA-DR (HLA-DR1 y HLA-DR4). La importancia de estos factores genéticos en la AR se mostró por primera vez en un estudio de asociación que reveló que alrededor de 50% de todos los pacientes con la enfermedad eran HLA-DR4. La concordancia en gemelos es del 10% y entre el resto de los hermanos del 1-2%, por lo que es una enfermedad hereditaria de penetrancia baja.

Se asocia a una secuencia aminoacídica de HLA-DRB1 que se da más en caucásicos, y que se denomina "epítipo compartido". Este marcador es el factor de riesgo genético más importante para el desarrollo de la artritis reumatoide. Comprende secuencias peptídicas características en la posición 70-74 de la cadena β 1 del antígeno leucocitario humano DR (HLA-DR), que están codificadas por varios alelos del gen HLA-DRB1. El análisis de alelos de epítipo compartido permite la evaluación del riesgo genético con respecto a la presencia o el desarrollo de la artritis reumatoide, y el pronóstico del curso de la enfermedad: las secuencias peptídicas QKRAA, QRRAA, RRRRAA y DKRAA están asociadas con un alto riesgo de desarrollar artritis reumatoide y con un curso grave de la enfermedad (alelos de alto riesgo). Las secuencias de péptidos DRRAA, QARAA y DERRAA, en contraste, están asociadas con un bajo riesgo de enfermedad y en algunos estudios incluso se han descrito como protectoras.

En la siguiente tabla se recoge la distribución de las secuencias entre los distintos alelos HLA-DRB1:

Epítipo	Asociación	Alelos HLA-DRB1
QKRAA	+	*04:01; *04:09; *04:13; *04:16; *04:21; *14:19; *14:21
QRRAA	+	*01:01; *01:02; *01:05; *04:04; *04:05; *04:08; *04:10; *04:19; *14:02; *14:06; *14:09; *14:13; *14:17; *14:20
RRRAA	+	*10:01
DERAA	-	*04:02; *04:14; *01:03; *11:02; *11:16; *11:20; *11:21; *13:01; *13:02; *13:04; *13:08; *13:15; *13:15; *13:17; *13:19; *13:22; *14:16
QRRRAE	-	*04:03; *04:06; *04:07; *04:17; *04:20

RRRAE	–	*09; *14:01; *14:04; *14:05; *14:07; *14:08; *14:10; *14:11; *14:14; *14:18
DRRAA	–	*12:03; *13:05; *13:06; *13:07; *13:11; *13:12; *13:14; *13:21; *16:01; *16:02; *16:05
QARAA	–	*15; *13:09
QKRGR	–	*03; *04:22; *11:07

Es una determinación de especial importancia en el diagnóstico precoz de la enfermedad.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

- Obtención de DNA genómico.
- Genotipado del locus HLA-DRB1* por PCR-SSOr y posterior revelado mediante la tecnología X-Map de Luminex.
- Análisis de los resultados obtenidos.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre extraída con EDTA como anticoagulante (5ml en tubo de tapón morado).

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial.

VALORES DE REFERENCIA

No existen valores de corte ya que son marcadores genéticos.

VALORES CRITICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El resultado que se informa es:

- Epitopo compartido positivo o negativo (pendiente).
- HLA-DRB1*01 positivo o negativo.
- HLA-DRB1*04 positivo o negativo.
- Tipaje HLA-DRB1.

Información adicional con respecto a los resultados obtenidos:

- El alelo HLA-DRB1*01:03 NO está asociado a AR.
- El alelo HLA-DRB1*10:01 SI está asociado a AR.

La presencia de alguno estos marcadores apoyan el diagnóstico mientras que el resultado negativo no descarta la enfermedad.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Histocompatibilidad: Máximo 15 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kochi Y, et al. Ethnogenetic heterogeneity of rheumatoid arthritis-implications for pathogenesis. Nat Rev Rheumatol. 2010 May;6(5):290-5.
2. de Vries R. Genetics of rheumatoid arthritis: time for a change! Curr Opin Rheumatol. 2011 May;23(3):227-32.
3. Padyukov L. Genetics of rheumatoid arthritis. Semin Immunopathol. 2022 Jan;44(1):47-62. doi: 10.1007/s00281-022-00912-0. Epub 2022 Jan 27.
4. Arleevskaya M, Takha E, Petrov S, Kazarian G, Novikov A, Larionova R, Valeeva A, Shuralev E, Mukminov M, Bost C, Renaudineau Y. Causal risk and protective factors in rheumatoid arthritis: A genetic update. J Transl Autoimmun. 2021 Sep 3;4:100119

ESTUDIO DE HLA-B27 (ESPONDILOARTROPATÍAS)

INFORMACIÓN CLÍNICA

El antígeno leucocitario humano HLA-B27 es un antígeno de superficie de clase I codificado en el locus B en el Complejo de mayor histocompatibilidad humana (MHC) en el brazo corto del cromosoma 6 (región 6p21). Estos genes codifican para proteínas de la membrana celular que juegan un papel crítico en la inmuno-competencia y en el rechazo o aceptación de los trasplantes, ya que tienen un papel fundamental en el inicio de la respuesta inmune específica.

La espondilitis anquilosante es una enfermedad autoinmune reumática crónica que cursa con dolores y fibrosis paulatina de las articulaciones. Pertenece al grupo de las llamadas espondiloartropatías seronegativas. Se las denomina de esta forma porque la determinación del factor reumatoide es negativa, a diferencia de la artritis reumatoide que es positiva. Este grupo de patologías incluye a la artritis reactiva, la artritis psoriásica, y las artropatías asociadas enfermedad inflamatoria intestinal (colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn). Afecta principalmente a la columna vertebral, a los ligamentos, inflamación denominada entesitis de la musculatura esquelética, en especial en la zona cervical, lumbar, y la articulación sacroilíaca, pero puede afectar también otras articulaciones del cuerpo como la cadera, rodillas, hombros y el talón de Aquiles. Durante el desarrollo de la enfermedad pueden aparecer también inflamaciones oculares en el iris (iritis), en la úvea (uveítis), causando migraña y fotofobia. También puede cursar con afectación renal y pulmonar.

La espondilitis anquilosante es una de las formas más frecuentes de las espondiloartropatías. Según un estudio realizado con donantes de sangre en la ciudad de Berlín, se calcula que aproximadamente el 1,9% de la población alemana padece de esta enfermedad. Se desconoce si esta cifra puede proyectarse al resto de la población mundial, pero la probabilidad es bastante elevada. En muchos casos la enfermedad se presenta con síntomas muy leves, lo que dificulta mucho su diagnóstico e imposibilita una estadística relevante.

Antiguamente se creía que la enfermedad se presentaba con el triple de frecuencia en los hombres que en las mujeres. Este error se debe a que la enfermedad se presenta con síntomas más ligeros en las mujeres que en los hombres -por lo menos en lo que se refiere a osificación o endurecimiento de la columna vertebral. Los primeros síntomas aparecen por lo general entre los 20 y los 25 años de edad, y sólo en el 5% de los casos después de los 40 años.

UTILIDAD CLÍNICA DEL ESTUDIO GENÉTICO

La aparición de la enfermedad está estrechamente relacionada con el antígeno HLA-B27, que parece jugar un papel muy importante en patogenia de la enfermedad. Por esta razón se supone que se trata de un mal hereditario. Si bien el HLA-B27 es el gen más conocido en este contexto, no se puede descartar la posibilidad de que otros genes también estén involucrados en la transmisión hereditaria de la enfermedad.

En la población general, cerca del 8% de los caucásicos, el 4% de los africanos, del 2-9% de los chinos y entre el 0,1 y el 0,5% de los japoneses son portadores del antígeno HLA-B27. En Escandinavia Meridional (Laponia), el 24% de la población es portadora de HLA-B27 mientras que solo el 1,8% de los individuos padecen espondilitis anquilosante (EA).

Patologías en la que resulta útil la determinación de HLA-B27:

- Espondilitis anquilosante.
- Artritis psoriática.
- Síndrome de Reiter.
- Artritis reactiva.
- Espondilitis asociada a enfermedad inflamatoria intestinal.
- Espondiloartropatía indiferenciada.
- Uveítis.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

- Obtención de DNA genómico del paciente.
- Detección del antígeno HLA-B*27 mediante amplificación por PCR-SSP específica y posterior revelado mediante electroforesis en geles de agarosa.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre extraída con EDTA como anticoagulante (5ml en tubo de tapón morado).

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial.

VALORES DE REFERENCIA

No existen valores de corte ya que son marcadores genéticos.

VALORES CRITICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El resultado que se informa es HLA-B*27 positivo o negativo. En la actualidad este antígeno HLA es uno de los criterios diagnósticos de la espondilitis anquilosante.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Histocompatibilidad: Máximo 15 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rudwaleit M, Sieper J. Referral strategies for early diagnosis of axial spondyloarthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2012;8(5):262-8.
2. Rostom S, Dougados M, Gossec L. New tools for diagnosing spondyloarthropathy. *Joint Bone Spine*. 2010;77(2):108-14
3. Rudwaleit M, et al. The development of Assessment of SpondyloArthritis international Society classification criteria for axial spondyloarthritis (part II): validation and final selection. *Ann Rheum Dis*. 2009;68(6):777-83.
4. Correction: *The development of assessment of SpondyloArthritis international society classification criteria for axial spondyloarthritis (part II): validation and final selection*. *Ann Rheum Dis*. 2019 Jun;78(6):e59.
5. Wu X, Wang G, Zhang L, Xu H. Genetics of Ankylosing Spondylitis-Focusing on the Ethnic Difference Between East Asia and Europe. *Front Genet*. 2021 Jun 14;12:671682.
6. Hwang MC, Ridley L, Reveille JD. Ankylosing spondylitis risk factors: a systematic literature review. *Clin Rheumatol*. 2021 Aug;40(8):3079-3093.

ESTUDIO GENÉTICO DE LA ENFERMEDAD DE BEHÇET.

INFORMACIÓN CLÍNICA

La Enfermedad de Behçet (EB) es una inflamación de los vasos sanguíneos (vasculitis) de causa desconocida, que puede afectar a casi cualquier parte del organismo (distribución generalizada o sistémica). La enfermedad de Behçet produce unas lesiones características en la piel y en las mucosas. Con frecuencia ocasiona alteraciones en los ojos, músculos y articulaciones. La enfermedad de Behçet tiene una incidencia muy baja y un curso crónico. Causa úlceras en la boca en forma de llagas dolorosas, úlceras genitales e inflamación ocular. También puede causar varios tipos de lesiones en la piel, inflamación de las articulaciones (artritis), inflamación intestinal con diarrea e inflamación del sistema nervioso, tanto central (cerebro, cerebelo, tronco cerebral, médula espinal, meninges) como de los nervios periféricos (brazos y piernas). Estas lesiones son el resultado de la inflamación de arterias y venas.

La enfermedad de Behçet comienza generalmente entre los veinte y cuarenta años, aunque puede aparecer a cualquier edad. La enfermedad es más prevalente en los países de la cuenca mediterránea y asiáticos, pero su distribución es universal.

No hay ninguna causa conocida responsable de la aparición de la enfermedad y no es contagiosa. Se cree que aparece en personas genéticamente predispuestas que se ven expuestas a algún agente externo, probablemente una bacteria. Los pacientes con la enfermedad suelen tener defectos en el sistema inmunológico, aunque se desconoce cuáles son exactamente. El principal grupo de genes que predisponen a esta enfermedad se localiza en el cromosoma 6 humano, específicamente en 6p21. Esta región cromosómica contiene un gran "cluster" o agrupación de genes llamado Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC).

UTILIDAD CLÍNICA DEL ESTUDIO GENÉTICO

La EB no tiene un patrón hereditario determinado, aunque sí existen factores genéticos predisponentes. La enfermedad se asocia con un marcador genético, el HLA B5 (HLA-B*51), especialmente en pacientes procedentes del Mediterráneo y del lejano Oriente. También se han descrito algunas familias con varios miembros afectados.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

- Obtención de DNA genómico.
- Genotipado del locus HLA-B* por PCR-SSOr y posterior revelado mediante la tecnología X-Map de Luminex.
- Análisis de los resultados obtenidos.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre extraída con EDTA como anticoagulante (5ml en tubo de tapón morado).

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial.

VALORES DE REFERENCIA

No existen valores de corte ya que son marcadores genéticos.

VALORES CRITICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El resultado que se informa es HLA-B5 positivo o negativo. Este antígeno HLA solo sirve como apoyo en el diagnóstico y el resultado negativo no descarta la presencia de la enfermedad.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Histocompatibilidad: Máximo 15 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Huang XF, Brown MA. Progress in the genetics of uveitis. *Genes Immun.* 2022.
2. Yılmaz MA, Türsen Ü. The Immunogenetics of Behcet's Disease. *Adv Exp Med Biol.* 2022;1367:335-347.
3. Maldini C, et al. Relationships of HLA-B51 or B5 genotype with Behcet's disease clinical characteristics: systematic review and meta-analyses of observational studies. *Rheumatology (Oxford).* 2012;51(5):887-900.
4. de Menthon M, et al. HLA-B51/B5 and the risk of Behçet's disease: a systematic review and meta-analysis of case-control genetic association studies. *Arthritis Rheum.* 2009 Oct 15;61(10):1287-96.

ESTUDIO GENÉTICO DE LA ENFERMEDAD CELIACA.

INFORMACIÓN CLÍNICA

La enfermedad celíaca es una enfermedad autoinmune que se caracteriza por una inflamación crónica del intestino delgado, causada por la exposición a la gliadina, una proteína vegetal de algunos cereales en la dieta. La gliadina es uno de los componentes del gluten (proteína presente en el trigo, la cebada, el centeno, el triticale, el kamut, la espelta y posiblemente la avena —por cuestiones de contaminación cruzada—). Al ser expuesta a la gliadina, la enzima transglutaminasa tisular modifica la proteína y el sistema inmune del individuo hace una reacción cruzada en contra del intestino delgado, causando una reacción inflamatoria que causa atrofia de las vellosidades que recubren el intestino e interferencias en la absorción de nutrientes.

Es un trastorno que aparece en personas genéticamente predispuestas, de todas las edades a partir de la infancia. Los síntomas incluyen diarrea crónica, retraso del crecimiento y/o del desarrollo infantil, fatiga, erupciones en la piel, pérdida de peso, cambios en el carácter, vómitos y vientre hinchado. Aunque estos síntomas pueden estar ausentes y aparecer puntualmente, la enfermedad puede afectar a todos los órganos y sistemas del organismo.

Se estima que la enfermedad afecta al 1% de la población caucásica, aunque se piensa que es una enfermedad considerablemente infra-diagnosticada. Como resultado de estudios familiares, se está observando un número creciente de diagnosticados asintomáticos. El único tratamiento eficaz es el cambio a una dieta libre de gluten que permita la regeneración de las vellosidades intestinales.

UTILIDAD CLÍNICA DEL ESTUDIO GENÉTICO

El principal grupo de genes que predisponen a esta enfermedad se localiza en el cromosoma 6 humano, específicamente en 6p21. Esta región cromosómica contiene un gran "cluster" o agrupación de genes llamado Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC).

Así, el antígeno HLA-DQ2 se presenta en 95% de los celíacos, lo cual no implica que tener el HLA DQ2 signifique desarrollar la celiaquía (de hecho, los celíacos son sólo un 2-5% de los portadores del HLA DQ2). Cerca del 5% restante de celíacos presentan HLA DQ8. La asociación se da realmente con los haplotipos DQA1*05:01 / DQB1*02:01 (DQ2.5), DQA1*05:05 / DQB1*02:02 (DQ2.5) y DQA1*03: xx / DQB1*03:02 (DQ8), y más recientemente DQA1*02:01 / DQB1*02:02 (DQ2.2), siendo necesario que el paciente sea portador de ambas cadenas. El tipaje HLA de los familiares de primer grado (padres, hermanos, hijos), es especialmente eficaz para conocer si hay más miembros susceptibles de desarrollar la enfermedad. Esto sólo ocurre en un 10-20% de los casos.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

- Obtención de DNA genómico.
- DQ2: Determinación de las cadenas HLA-DQA1*05:01-05/DQB1*02:01-02 (DQ2.5 y DQ2.2) por PCR-SSP y posterior revelado mediante electroforesis en geles de agarosa.
- DQ8: Genotipado de los loci HLA-DQA1* y DQB1* por PCR-SSO y posterior revelado mediante la tecnología X-Map de Luminex.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre extraída con EDTA como anticoagulante (5ml en tubo de tapón morado).

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial.

VALORES DE REFERENCIA

No existen valores de corte ya que son marcadores genéticos.

VALORES CRITICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El resultado que se informa es:

- HLA-DQ2.5 positivo o negativo.
- HLA-DQ2.2 positivo o negativo
- HLA-DQ8 positivo o negativo.

La determinación del HLA-DQ8 se realizará en aquellos casos en los que el HLA-DQ2.5 sea negativo.

La interpretación de los resultados obtenidos se realizará de acuerdo con las **Recomendaciones para la elaboración e interpretación de informes genéticos en enfermedad celíaca¹**.

La presencia de alguno de estos dos marcadores apoya el diagnóstico, su ausencia permite descartarlo.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Histocompatibilidad: Máximo 15 días.

En el caso de que sea necesario realizar el tipaje de HLA-DQ8 el tiempo de respuesta máximo es de 30 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Núñez C, Garrote JA, Arranz E, Bilbao JR, Fernández Bañares F, Jiménez J, Perucho T, Ruiz Casares E, Sánchez-Valverde F, Serrano JJ. Recommendations to report and interpret HLA genetic findings in coeliac disease. Rev Esp Enferm Dig. 2018 Jul;110(7):458-461
2. Newnham ED. Does gluten cause gastrointestinal symptoms in subjects without coeliac disease? J Gastroenterol Hepatol. 2011;26 Suppl 3:132-4.
3. Volta U, Villanacci V. Celiac disease: diagnostic criteria in progress. Cell Mol Immunol. 2011 Mar;8(2):96-102.
4. Steele R; CRF. Diagnosis and management of coeliac disease in children. Postgrad Med J. 2011 Jan;87(1023):19-25.
5. Trynka G, Wijmenga C, van Heel DA. A genetic perspective on coeliac disease. Trends Mol Med. 2010 Nov;16(11):537-50.
6. Heap GA, van Heel DA. Genetics and pathogenesis of coeliac disease. Semin Immunol. 2009 Dec;21(6):346-54.

ESTUDIO GENÉTICO DE LA DIABETES MELLITUS TIPO I.

INFORMACIÓN CLÍNICA

La diabetes mellitus tipo I o también conocida como diabetes juvenil o diabetes mellitus insulino-dependiente, es una enfermedad metabólica caracterizada por una destrucción selectiva de las células beta del páncreas causando una deficiencia absoluta de insulina. Se diferencia de la diabetes mellitus tipo 2 porque es un tipo de diabetes caracterizada por darse en época temprana de la vida, generalmente antes de los 30 años y por depender desde el diagnóstico de la administración exógena de insulina. Sólo 1 de cada 20 personas diabéticas tiene diabetes tipo I, la cual se presenta más frecuentemente en jóvenes y niños. La administración de insulina en estos pacientes es esencial. Aparece en todos los grupos étnicos, pero es especialmente frecuente en poblaciones del norte de Europa y en Cerdeña. La susceptibilidad a contraer diabetes mellitus tipo 1 parece estar asociada a factores genéticos múltiples, aunque solo el 15-20% de los pacientes tienen una historia familiar positiva.

Los factores genéticos por sí solos no son causa suficiente para la aparición de DM tipo 1, ya que la tasa de concordancia observada entre gemelos monocigóticos para esta enfermedad es de, aproximadamente, 40%. Sin embargo, existe evidencia fuerte que apoya la participación de factores genéticos en la DM tipo 1: la tasa de concordancia entre gemelos monocigóticos es muy superior a la que presentan los gemelos dicigóticos, y el riesgo para los hermanos de un probando afectado es relativamente alto, aproximadamente de 6%.

En la determinación genética de la DM tipo 1 participan numerosos genes. El principal grupo de genes que predisponen a esta enfermedad se localiza en el cromosoma 6 humano, específicamente en 6p21. Esta región cromosómica contiene un gran "cluster" o agrupación de genes llamado Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC).

UTILIDAD CLÍNICA DEL ESTUDIO GENÉTICO

La diabetes mellitus tipo 1 se ha asociado principalmente con variantes alélicas de HLA-DR (HLA-DR3 y HLA-DR4). Que el locus MHC (Complejo Mayor de Histocompatibilidad) es un factor genético de gran importancia en la DM 1 se mostró por primera vez en un estudio de asociación que reveló que alrededor de 95 % de todos los pacientes con DM 1 eran heterocigotos para HLA-DR3 o HLA-DR4 y que los heterocigotos DR3/DR4 eran particularmente susceptibles a este tipo de diabetes. Esta es una de las asociaciones más fuertes conocidas entre MHC y enfermedades. La mayoría de los diabéticos de tipo 1 tienen el haplotipo HLA-DR3, HLA-DR4, o ambos. Sin embargo, según estudios más recientes, la asociación más estrecha con la DM tipo I se da con los haplotipos DQA1*03:xx/DQB1*03:02 (DQ8), y DQA1*05:01-05/DQB1*02:01-02 (DQ2). La susceptibilidad real a la DM tipo I estaría condicionada por estos alelos DQ y la asociación con DR sería debida al elevado grado de desequilibrio de ligamiento con DQ.

El modo de herencia de la DM tipo 1 es desconocido. Se han sugerido diversas hipótesis, como la de herencia dominante, pero se descarta por la rareza de la DM tipo 1 en parientes, hijos y descendientes. También se ha planteado la posibilidad de herencia recesiva, pero esta alternativa se invalida, porque en los homocigotos para los alelos DR3 o DR4, la susceptibilidad para la enfermedad no se encuentra aumentada. La observación de que la heterocigosis DR3/DR4 aumenta el riesgo para la diabetes, en comparación con la que presentan los homocigotos de otros alelos de alto riesgo, sugiere un modo de herencia poligénico.

Finalmente, a pesar del elevado riesgo relativo de DM tipo 1 en los sujetos con determinados alelos HLA clase II, ésta no se desarrolla en la mayoría de las personas que heredan estos alelos lo que sugiere que además influyen factores ambientales en el desarrollo de la enfermedad. La naturaleza de estos factores ambientales es hasta ahora totalmente desconocida.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

- Obtención de DNA genómico.
- Genotipado de los loci HLA-DRB1* y DQB1* por PCR-SSOr mediante la tecnología X-Map de Luminex.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre extraída con EDTA como anticoagulante (5ml en tubo de tapón morado).

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial.

VALORES DE REFERENCIA

No existen valores de corte ya que son marcadores genéticos.

VALORES CRITICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El resultado que se informa es:

- HLA-DR3 positivo o negativo.
- HLA-DR4 positivo o negativo.
- HLA-DQ2 positivo o negativo.
- HLA-DQ8 positivo o negativo.

Un resultado negativo no descarta la enfermedad.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Histocompatibilidad: Máximo 15 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Mikk ML, Pfeiffer S, Kiviniemi M, Laine AP, Lempainen J, Härkönen T, Toppari J, Veijola R, Knip M, Ilonen J; Finnish Pediatric Diabetes Register. HLA-DR-DQ haplotypes and specificity of the initial autoantibody in islet specific autoimmunity. *Pediatr Diabetes*. 2020 Nov;21(7):1218-1226.
2. Hagopian W, Lee HS, Liu E, Rewers M, She JX, Ziegler AG, Lernmark Å, Toppari J, Rich SS, Krischer JP, Erlich H, Akolkar B, Agardh D; TEDDY Study Group. Co-occurrence of Type 1 Diabetes and Celiac Disease Autoimmunity. *Pediatrics*. 2017 Nov;140(5):e20171305.
3. Morahan G. Insights into type 1 diabetes provided by genetic analyses. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2012 Aug;19(4):263-70.
4. Camarca ME, et al. Celiac disease in type 1 diabetes mellitus. *Ital J Pediatr*. 2012 Mar 26;38:10.
5. Noble JA, Valdes AM. Genetics of the HLA region in the prediction of type 1 diabetes. *Curr Diab Rep*. 2011 Dec;11(6):533-42.
6. Steck AK, Rewers MJ. Genetics of type 1 diabetes. *Clin Chem*. 2011 Feb;57(2):176-85.
7. Pociot F, et al. Genetics of type 1 diabetes: what's next? *Diabetes*. 2010;59(7):1561-71.

ESTUDIO GENÉTICO DE LA NARCOLEPSIA.

INFORMACIÓN CLÍNICA

La narcolepsia, también conocida como síndrome de Gelineau, es un trastorno neurológico que se caracteriza por la presencia de accesos de somnolencia irresistible durante el día. Puede cursar con cataplejía (parálisis o debilidad extrema bilateral de un conjunto muscular), alucinaciones hipnagógicas (visiones fugaces en la transición vigilia-sueño) o hipnopómpicas (transición sueño-vigilia); incluso puede haber parálisis del sueño, e interrupción del sueño nocturno. De acuerdo con estudios epidemiológicos, la prevalencia de este trastorno neurológico del sueño en la población adulta se ubica entre un 0,02 y un 0,16%, afectando en forma similar a hombres y mujeres.

Clásicamente, el diagnóstico de narcolepsia requería la presencia de la tétrada narcoléptica, formada por excesiva somnolencia diurna, cataplejía, alucinaciones hipnagógicas y/o hipnopómpicas y parálisis del sueño.

Los últimos tres síntomas de esta tétrada son consecuencia de una regulación anómala del sueño REM (Rapid Eye Movement, en español: movimiento ocular rápido) que es inherente al síndrome. Todos los pacientes con narcolepsia presentan una somnolencia diurna verificable de forma objetiva, aunque los otros tres síntomas aparecen de forma variable. Sólo un 10% de los pacientes narcolépticos presenta la tétrada sintomática completa. El 80% de los enfermos presentan cataplejía en algún grado, y un porcentaje menor presentan alucinaciones hipnagógicas, parálisis del sueño o ambas. Otros síntomas asociados pueden ser útiles para el diagnóstico, aunque carecen de especificidad. Los antecedentes de conducta automática durante el despertar (un estado de trance durante el cual persisten las conductas motoras sencillas) permiten corroborar la presencia de somnolencia diurna, aunque no tienen especificidad mayor. Los pacientes con narcolepsia señalan con frecuencia una interrupción grave del sueño nocturno.

El principal grupo de genes que predisponen a esta enfermedad se localiza en el cromosoma 6 humano, específicamente en 6p21. Esta región cromosómica contiene un gran "cluster" o agrupación de genes llamado Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC).

UTILIDAD CLÍNICA DEL ESTUDIO GENÉTICO

Los antecedentes familiares son importantes para la valoración de un paciente con somnolencia diurna excesiva. La observación cuidadosa de los hijos y hermanos de los pacientes con narcolepsia, sobre todo de los que tienen edad típica de inicio (segundo decenio de vida), puede permitir un diagnóstico rápido.

La causa de esta enfermedad es desconocida, aunque todos los pacientes estudiados presentan alelos HLA específicos de esta patología, lo que sugiere un origen genético. Se observa una asociación especialmente fuerte con el antígeno HLA-DR2. Los individuos con el alelo DRB1*15:01 (alelo más específico del antígeno DR2) tienen una probabilidad de desarrollar la enfermedad muy superior a la de los que carecen del mismo: se ha establecido que tal probabilidad es cien veces mayor en las personas con DR2 respecto de aquellas sin DR2 (riesgo relativo aproximado). Más recientemente, las investigaciones se han centrado en los alelos HLA-DQB1*0602 y HLA-DQA1*0102, que se encuentran en desequilibrio de ligamiento con HLA-DR2, los cuales también predisponen para la enfermedad y lo hacen en forma más significativa.

Con todo, la verdadera causa de la enfermedad sigue sin conocerse, y se piensa que deben intervenir otros factores. La homocigosidad para el alelo DQB1*0602 aumentaría la susceptibilidad para padecer la enfermedad, pero no su gravedad. Tampoco se ha podido verificar para este trastorno un comportamiento fisiopatológico similar al de las enfermedades autoinmunes clásicas, pese a que éstas se asocian menos al HLA que la propia narcolepsia.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

- Obtención de DNA genómico.
- Genotipado de los loci HLA-DRB1* y DQB1* por PCR-SSOr mediante la tecnología X-Map de Luminex.
- Análisis de los resultados obtenidos.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre extraída con EDTA como anticoagulante (5ml en tubo de tapón morado).

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial.

VALORES DE REFERENCIA

No existen valores de corte ya que son marcadores genéticos.

VALORES CRITICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El resultado se informa de la siguiente manera:

- HLA-DRB1*15:01 positivo o negativo.
- HLA-DQB1*06:02 positivo o negativo.

Un resultado negativo descarta en gran medida una narcolepsia genética.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Histocompatibilidad: Máximo 15 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kachooei-Mohaghegh-Yaghoobi L, Rezaei-Rad F, Sadeghniiat-Haghighi K, Zamani M. The impact of the HLA DQB1 gene and amino acids on the development of narcolepsy. Int J Neurosci. 2020 Oct 22:1-8
2. Miyagawa T, Tokunaga K. Genetics of narcolepsy. Hum Genome Var. 2019 Jan 8;6:4.
3. Cao M. Advances in narcolepsy. Med Clin North Am. 2010;94(3):541-55.
4. Overeem S, et al. Narcolepsy: immunological aspects. Sleep Med Rev. 2008;12(2):95-107
5. Dauvilliers Y, et al. Narcolepsy with cataplexy. Lancet. 2007; 369(9560):499-511.

ESTUDIO GENETICO DE LA PSORIASIS (HLA-Cw6).

INFORMACIÓN CLÍNICA

La psoriasis es una enfermedad inflamatoria crónica de la piel que produce lesiones escamosas engrosadas e inflamadas, con una amplia variabilidad clínica y evolutiva. No es contagiosa, aunque sí puede ser hereditaria, es más probable que la hereden los hombres que las mujeres. Puede afectar a cualquier parte de la piel, frecuentemente a las zonas de codos, rodillas, cuero cabelludo, abdomen y espalda. No es raro que produzca afectación de las uñas. En ocasiones produce complicaciones que pueden ser especialmente graves como la artritis psoriática.

Se estima que entre un 1 y un 3% de la población sufre de psoriasis. Si bien puede aparecer a cualquier edad, suele hacerlo entre los 15 y los 35 años, con un pico máximo de incidencia en la segunda década. Afecta por igual a ambos sexos, aunque es más precoz en mujeres y en personas con antecedentes familiares. Por otro lado, no existe relación entre psoriasis y cáncer de piel (no maligniza).

La causa de la psoriasis es una velocidad anormalmente alta de mitosis en las células epidérmicas que se pueden relacionar con una sustancia transportada en la sangre, un defecto en el sistema inmune. Se cree que no tiene una causa única, sino multifactorial, en individuos con predisposición genética a padecerla, puede ser desencadenada o exacerbada por diversos factores ambientales.

UTILIDAD CLÍNICA DEL ESTUDIO GENÉTICO

La herencia de esta enfermedad es posiblemente poligénica. Se ha demostrado una importante agregación familiar, el aumento de concordancia en gemelos monocigotos y la asociación a determinados HLA.

El principal grupo de genes que predisponen a esta enfermedad se localiza en el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC). En este sentido, se asocian con la predisposición a psoriasis con los antígenos HLA-Cw6, y HLA-DR7, aunque solo el primero ha demostrado tener utilidad en el diagnóstico. Además, existe correlación entre el tipo clínico de psoriasis y otros antígenos HLA. Por ejemplo, HLA-B27 está relacionado la espondiloartropatía psoriática y con la forma pustulosa generalizada.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

- Obtención de DNA genómico.
- Genotipado del locus HLA-C* por PCR-SSOr mediante la tecnología X-Map de Luminex.
- Análisis de los resultados obtenidos.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre extraída con EDTA como anticoagulante (5ml en tubo de tapón morado).

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial.

VALORES DE REFERENCIA

No existen valores de corte ya que son marcadores genéticos.

VALORES CRITICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El resultado que se informa es:

- HLA-Cw6 positivo o negativo.
- Una prueba negativa no descarta la enfermedad.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Histocompatibilidad: Máximo 15 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Trovato E, Rubegni P, Cinotti E. The Immunogenetics of Psoriasis. *Adv Exp Med Biol.* 2022;1367:105-117.
2. Temel B, Adisen E, Gonen S. HLA-Cw6 Status and Treatment Responses Between Psoriasis Patients. *Indian J Dermatol.* 2021 Nov-Dec;66(6):632-637.
3. Reveille JD. Genetics of spondyloarthritis--beyond the MHC. *Nat Rev Rheumatol.* 2012;8(5):296-304.
4. Chandran V, Raychaudhuri SP. Geoepidemiology and environmental factors of psoriasis and psoriatic arthritis. *J Autoimmun.* 2010 May;34(3): J314-21.
5. Elder JT, Bruce AT, Gudjonsson JE, Johnston A, Stuart PE, Tejasvi T, Voorhees JJ, Abecasis GR, Nair RP. Molecular dissection of psoriasis: integrating genetics and biology. *J Invest Dermatol.* 2010 May;130(5):1213-26.
6. Elder JT. Genome-wide association scan yields new insights into the immunopathogenesis of psoriasis. *Genes Immun.* 2009 Apr;10(3):201-9.

ESTUDIO DE LOS RECEPTORES KIR Y DE LOS ALELOS HLA-C* EN EL FALLO REPRODUCTIVO

INFORMACIÓN CLÍNICA

El complejo mayor de histocompatibilidad es un grupo de genes con múltiples loci en el cromosoma 6 que codifica dos clases de receptores proteicos conocidos como HLA clase I y II. Se hereda de forma codominante, por lo que el gen de la madre y del padre se expresan por igual en el fenotipo del hijo. El HLA clase II [DR, DP y DQ] se expresa en el endotelio vascular, en la estirpe monocito-macrófago, en los linfocitos B activados, y en los linfocitos T CD4 activados. El HLA clase I, está en todas las células con núcleo y en las plaquetas. Existen 6 tipos de HLA I, los clásicos [A, B y C] muy polimórficos y por eso únicos en cada persona, y los tres tipos no clásicos [E, F, G], que son monomórficos y se expresan de modo prácticamente igual en todos los individuos. El trofoblasto expresa HLA-E y HLA-G, este último es especialmente vulnerable a la acción de las NK, de este modo, se une a los principales receptores inhibidores de las células NK, el [KIR], e inhibe su función citotóxica¹². Existe cierta controversia ya que algunos autores como Hiby et al. ofrecen más importancia al HLA de clase I: HLA-C. Este autor sugiere que el HLA C es más polimórfico que el HLA-G y por lo tanto es diana específica del KIR y esto le confiere una estrecha relación con el fallo reproductivo recurrente. Hiby afirma que el defecto más importante radica en el exceso de inhibición KIR hacia las NK uterinas^{18,19}.

UTILIDAD CLÍNICA DEL ESTUDIO GENÉTICO

Los métodos de biología molecular desarrollados para la detección de los receptores KIR y de los alelos HLA-C* nos permiten una predicción o una confirmación del diagnóstico clínico sin necesidad de reintroducir el fármaco en el paciente, evitando con ello todos los posibles problemas asociados a su hipersensibilidad. De esta manera, podría determinarse qué pacientes no deberían recibir un tratamiento con abacavir de forma previa a su administración.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

- Obtención de DNA genómico.
- Genotipado de los receptores KIR por PCR-SSOr y posterior revelado mediante la tecnología X-Map de Luminex.
- Genotipado del locus HLA-C* por PCR-SSOr y posterior revelado mediante la tecnología X-Map de Luminex.
- Análisis de los resultados obtenidos y elaboración del informe clínico.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre extraída con EDTA como anticoagulante (5ml en tubo de tapón morado).

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial.

VALORES DE REFERENCIA

No existen valores de corte ya que son marcadores genéticos.

VALORES CRÍTICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Se realiza un informe clínico en el que se recoge la información del genotipo KIR, del tipaje HLA-C* y de la variante HLA-C1 o C2 que portan ambos progenitores.

La combinación de un genotipo KIR AA materno con un feto portador de al menos un alelo HLA-C2, especialmente cuando la procedencia de este alelo es paterna, se asocia con fallo reproductivo, recién nacido de bajo peso y preeclampsia materna

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Histocompatibilidad: Máximo 20 días.

ESTUDIO GENÉTICO DE LA HEMOCROMATOSIS.

INFORMACIÓN CLÍNICA.

La hemocromatosis hereditaria (HH), también denominada hemocromatosis primaria, es una enfermedad autosómica recesiva resultante de un error congénito del metabolismo del hierro que, debido a una absorción intestinal desmedida, provoca su acumulación en las células parenquimatosas del hígado, páncreas, corazón, paratiroides e hipófisis, fundamentalmente. La acumulación de hierro en los tejidos provoca su alteración, tanto estructural como funcional, y los órganos evolucionan progresivamente convergiendo en manifestaciones clínicas graves y potencialmente letales, como cirrosis y cáncer hepático, diabetes, miocardiopatías y procesos de insuficiencia endocrina.

Se estima que la frecuencia de ambos alelos en homocigosis causantes de la HH es de 1 cada 200-400 individuos. No obstante, la frecuencia de diagnóstico se sitúa alrededor del 1 por 10.000, dada la baja sospecha clínica de esta patología, al ser considerada poco frecuente.

Además, aun cuando no haya expresión clínica de la hemocromatosis, la presencia de las mutaciones mencionadas, tanto en homocigosis como en heterocigosis, se asocia a sobrecarga de hierro. Esto puede tener importancia en aquellos individuos que presenten cardiopatías, hepatopatía crónica, artropatías, impotencia e infertilidad, haciendo que estas patologías sean más graves y de expresión más temprana. También en los casos de hepatitis por virus C, la proteína HFE mutada puede influir en la progresión de la enfermedad y en la mala respuesta al tratamiento con interferón.

UTILIDAD CLÍNICA DEL ESTUDIO GENÉTICO

La hemocromatosis primaria se provoca por mutaciones en el gen HFE, localizado en el brazo corto del cromosoma 6 (6p21.3). Cerca del 90% de los casos de hemocromatosis primaria se debe a la presencia en homocigosis de la mutación C282Y, que provoca la sustitución de una cisteína por una tirosina en la posición 282. Además, otro 5% presenta esta mutación en heterocigosis, junto a otra mutación también en heterocigosis en el mismo gen, la H63D, que provoca la sustitución de una histidina por un aspartato en la posición 63 o la S65C en la que ha una sustitución de una serina por una cisteína en la posición 65.

A pesar de la gravedad de esta enfermedad, si el diagnóstico se realiza de forma precoz en la fase asintomática, se puede evitar su evolución y las graves complicaciones asociadas (cirrosis, diabetes, cardiopatías, artropatía, disfunción endocrina, etc.). Por tanto, el diagnóstico precoz en la fase asintomática puede realizarse mediante la detección genotípica de las mutaciones implicadas directamente en el desarrollo de la patología.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

- Obtención de DNA genómico
- Detección de la mutación C282Y mediante PCR-RFLP: Amplificación selectiva del gen HFE y digestión del amplicón con el enzima de restricción Rsa1. Revelado mediante electroforesis en geles de agarosa.
- En pacientes heterocigotos para C282Y se completará el estudio con la determinación de las mutaciones H63D y S65C mediante monitorización con sondas Taqman®.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre extraída con EDTA como anticoagulante (5ml en tubo de tapón morado).

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial.

VALORES DE REFERENCIA

No existen valores de corte ya que son marcadores genéticos.

VALORES CRITICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El resultado que se informa es:

- Mutación C282Y: Homocigoto, heterocigoto o no mutado.
- Mutación H63D: Homocigoto, heterocigoto o no mutado.
- Mutación S65C: Homocigoto, heterocigoto o no mutado.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Histocompatibilidad:

- Pacientes negativos para la mutación C282Y: Máximo 15 días.
- Pacientes con la mutación C282Y en homocigosis: Máximo 15 días.
- Pacientes con la mutación C282Y en heterocigosis: Máximo 25 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cancado RD, Alvarenga AM, Santos PCJ. HFE hemochromatosis: an overview about therapeutic recommendations. *Hematol Transfus Cell Ther.* 2022 Jan-Mar;44(1):95-99.
2. Anderson GJ, Bardou-Jacquet E. Revisiting hemochromatosis: genetic vs. phenotypic manifestations. *Ann Transl Med.* 2021 Apr;9(8):731
3. Nadakkavukaran IM, Gan EK, Olynyk JK. Screening for hereditary haemochromatosis. *Pathology.* 2012 Feb;44(2):148-52.
4. Gan EK, Powell LW, Olynyk JK. Natural history and management of HFE-hemochromatosis. *Semin Liver Dis.* 2011 Aug;31(3):293-301
5. Babitt JL, Lin HY. The molecular pathogenesis of hereditary hemochromatosis. *Semin Liver Dis.* 2011 Aug;31(3):280-92.
6. Brissot P, Bardou-Jacquet E, Jouanolle AM, Loréal O. Iron disorders of genetic origin: a changing world. *Trends Mol Med.* 2011 Dec;17(12):707-13.

ESTUDIO GENÉTICO DE LA CORIORRETINOPATIA EN PERDIGONADA O DE BIRDSHOT (HLA-A*29)

INFORMACIÓN CLÍNICA.

La coriorretinopatía en perdigonada (*Birdshot*) es una uveítis bilateral rara de origen autoinmune, con un curso clínico crónico recurrente, que afecta primordialmente el segmento posterior del ojo. Es una enfermedad poco frecuente, representando del 0.6% al 1.5% de todos los casos de uveítis. Existe una muy leve predilección por el género femenino (54.1% casos en general), siendo además la edad promedio de presentación de 53 años (rango entre 15 y 79 años). La gran mayoría de los pacientes descritos son de raza blanca, ascendentes del norte de Europa.

La presentación clínica inicial se caracteriza por disminución de la agudeza visual, debida a edema macular o miodesopsias ocasionadas por vitreítis. Los pacientes afectados también pueden presentar nictalopia, discromatopsia, fotopsias y deslumbramiento. Ambos ojos se encuentran afectados, aunque el compromiso puede ser asimétrico. Algunos pacientes pueden permanecer asintomáticos o con molestias mínimas al inicio de la enfermedad, lo cual retarda el diagnóstico.

La historia natural de la enfermedad se caracteriza por la cronicidad, presentando exacerbaciones agudas y una disminución insidiosa de la agudeza visual y reducción progresiva de los campos visuales. Este curso clínico caracterizado por exacerbaciones inflamatorias vasculares, papilares y maculares que ponen en riesgo la visión del paciente, así como la potencial disfunción retiniana crónica progresiva y subclínica observada en algunos casos, ha hecho que el tratamiento esté basado en terapia inmunosupresora por tiempo prolongado. La reducción sustancial, e incluso estabilización de la inflamación vítrea y la vasculitis retinal ha sido evidenciado por medio de electroretinografía durante la terapia por toma de daclizumab (bloqueador receptor IL-2).

A pesar de que la etiología de la coriorretinopatía en perdigonada es desconocida, existe una clara asociación con el alelo HLA-A*29 (Presente en el 98% de los pacientes). El riesgo relativo de desarrollar la enfermedad se ha estimado entre 50 y 224 veces más, siendo la sensibilidad y especificidad diagnóstica del HLA-A*29 del 96% y 93%, respectivamente. Aunque en un principio se asoció la enfermedad exclusivamente al HLA-A29.2, recientemente se ha comprobado que ambos subtipos, A29.1 y A29.2 están asociados con esta patología. El mecanismo por el cual las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I (MHC-I) intervienen en el desarrollo de la enfermedad, no se conoce.

UTILIDAD CLÍNICA DEL ESTUDIO GENÉTICO

La herencia de esta enfermedad es posiblemente poligénica, aunque más del 95 por ciento de los pacientes con coriorretinopatía en perdigonada son positivos para HLA-A*29. El valor predictivo positivo es menor del 50%, ya que el 8% de la población general es HLA-A*29+. Por esta última razón, las pruebas de HLA-A*29 por si solas no son consideradas necesarias para un diagnóstico definitivo. Además, otros factores genéticos, ambientales o desconocidos podrían estar asociados con la patogénesis de la enfermedad.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

1. Obtención de DNA genómico.
2. Determinación y análisis del locus HLA-A por PCR-SSOr mediante la tecnología X-Map de Luminex.
3. Interpretación de los resultados

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre extraída con EDTA como anticoagulante (5ml en tubo de tapón morado).

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial.

VALORES DE REFERENCIA

No existen valores de corte ya que son marcadores genéticos.

VALORES CRITICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El resultado que se informa es:

- Genotipado del locus HLA-A*
- HLA-A*29 positivo o negativo
 - El resultado de la prueba se valora dentro del contexto clínico del paciente, por lo que un resultado negativo no descarta necesariamente la enfermedad.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Histocompatibilidad: Máximo 30 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sukhum Silpa-archa, Jennifer H. Cao, Sutasinee Boonsopon, Joan Lee, Janine M. Preble & C. Stephen Foster (2017) Birdshot Retinochoroidopathy: Differences in Clinical Characteristics between Patients with Early and Late Age of Onset, *Ocular Immunology and Inflammation*, 25:5, 594-600.
2. Gelfman, S., Monnet, D., Ligocki, A. J., Tabary, T., Moscati, A., Bai, X., Freudenberg, J., Cooper, B., Kosmicki, J. A., Wolf, S., Ferreira, M., Overton, J., Weyne, J., Stahl, E. A., Baras, A., Romano, C., Cohen, J., Coppola, G., Brézín, A., & Regeneron Genetics Center (2021). ERAP1, ERAP2, and Two Copies of HLA-Aw19 Alleles Increase the Risk for Birdshot Chorioretinopathy in HLA-A29 Carriers. *Investigative ophthalmology & visual science*, 62(14), 3
3. Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group. Classification Criteria for Birdshot Chorioretinitis. *Am J Ophthalmol*. 2021 Aug;228: 65-71. doi: 10.1016/j.ajo.2021.03.059. Epub 2021 Apr 15.

TIPAJE HLA EN TRASPLANTE

INFORMACIÓN CLÍNICA.

Dos de las tres clases de genes agrupados en MHC, los genes de clase I y de clase II, son genes que codifican para antígenos de leucocitos humanos (genes HLA). Estos antígenos constituyen proteínas de la membrana celular de los leucocitos y juegan un papel crítico en la inmuno-competencia y en el rechazo o aceptación de los trasplantes, ya que normalmente tienen un papel importante en el inicio de la respuesta inmune.

La región MHC en humanos está dividida en varias subregiones formadas por loci específicos que codifican para distintos antígenos de superficie celular, tales como: HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR y otras proteínas involucradas en la respuesta inmune.

Aunque la función fisiológica de las moléculas de histocompatibilidad no es obviamente el rechazo de trasplantes, si se analiza el tiempo de supervivencia del injerto, se demuestra que cuanto mayor es la compatibilidad HLA mayor es la supervivencia de los mismos. En efecto, la supervivencia a largo plazo (sobre todo después de los 5 primeros años), es mayor cuanto mayor sea el grado de compatibilidad HLA, sobre todo en lo que se refiere a las moléculas de clase II. El hecho de que la compatibilidad HLA de clase II, sea más importante que la de clase I en el trasplante de órganos, no está totalmente aclarado, pero parece tener su origen en la manera en que se induce la respuesta inmune y a la aparición de anticuerpos frente a los antígenos de clase II.

El trasplante de precursores hematopoyéticos conocido genéricamente como trasplante de médula ósea, es un procedimiento mediante el que se destruye la médula ósea de un paciente y se cambia por precursores hematopoyéticos nuevos. Estas células trasplantadas repueblan la médula ósea y reanudan la producción de glóbulos rojos, leucocitos y plaquetas. Para hacer el trasplante, se puede conseguir la médula del mismo paciente (trasplante autólogo), o de otra persona (trasplante alogénico). En la mayoría de los casos el trasplante alogénico se realiza entre hermanos HLA idénticos, pero en ocasiones se recurre a donantes no emparentados. Este procedimiento está asociado con riesgos de infección, toxicidad pulmonar y neurológica, y la condición autoinmune llamada enfermedad injerto-contra-huésped.

UTILIDAD CLÍNICA DEL ESTUDIO GENÉTICO

El estudio genético del sistema HLA se puede realizar a nivel de antígeno (baja resolución) o a nivel de alelo (alta resolución) dependiendo del tipo de trasplante.

En el caso de los trasplantes de órganos sólidos el estudio que se realiza es de baja resolución. Teniendo en cuenta la relevancia de la compatibilidad HLA en la supervivencia a largo plazo del trasplante, es necesario realizar la tipificación HLA de aquellos pacientes que entran en lista de espera para recibir un determinado órgano. En el momento en que se produce una donación de cadáver, se realiza la tipificación HLA del donante, lo que nos permite seleccionar los mejores receptores de entre todos los candidatos que figuran en la lista de espera. La compatibilidad HLA (sobre todo para el locus HLA-DRB1*) aumenta la supervivencia del injerto en todos los tipos de trasplantes, salvo en el trasplante hepático. Sin embargo, en determinados tipos de trasplante, por ejemplo, el trasplante cardíaco, prima la urgencia clínica sobre cualquier otra consideración, por lo que la mayoría de las veces no se tienen en cuenta los criterios de compatibilidad, aunque si se realiza el tipaje de donante y receptor con el fin de ajustar el tratamiento inmunosupresor.

En el caso del trasplante de precursores hematopoyéticos se requiere una compatibilidad a nivel de alta resolución de 10 alelos sobre 5 loci estudiados (HLA-A, HLA-B*, HLA-C*, HLA-DRB1* y HLA-DQB1*) con el fin de minimizar el riesgo de enfermedad de injerto contra huésped (EICH). En el caso de encontrar algún donante emparentado se amplía el estudio al locus HLA-DPB1*. Un mismatch a este nivel no contraindica el trasplante, pero condiciona la inmunosupresión. Los trasplantes alogénicos siempre presentan el riesgo de EICH. El sistema inmune nuevo ataca las células del receptor porque estas son marcadas con antígenos HLA distintos a los del donante. Esta reacción es mediada por linfocitos T aloreactivos. Se afectan principalmente la piel y el tubo digestivo, pero también se pueden inflamar los pulmones y el hígado. El primer síntoma generalmente es una erupción roja, seguida por una diarrea acuosa. En algunos casos es posible eliminar los linfocitos T maduros de la médula ósea tomada del donante antes de trasplantarla. Este proceso sí baja el riesgo de desarrollar EICH. Sin embargo, estos linfocitos tienen un efecto muy beneficioso ya que atacan a las células malignas que aún existen a pesar del acondicionamiento, un fenómeno llamado efecto injerto-contra-tumor.

En caso de no existir hermanos HLA idénticos se realiza la búsqueda de un donante no emparentado a través del Registro Español de Donantes de Médula Ósea (REDMO).

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

- Obtención de DNA genómico.
- Tipaje de baja resolución:
 - PCR-SSOr. Mediante kits comerciales específicos de locus utilizando la tecnología XMap de Luminex.
- Tipaje de alta resolución:
 - Next generation sequencing o NGS, utilizando la tecnología de secuenciación de Illumina.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre extraída con EDTA como anticoagulante (5ml en tubo de tapón morado).

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial.

VALORES DE REFERENCIA

No existen valores de corte ya que son marcadores genéticos.

VALORES CRITICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El resultado que se informa es:

- Trasplante de órganos sólidos:
 - Receptor de trasplante de órganos sólidos: Tipaje HLA-A*, HLA-B* y HLA-DRB1* baja resolución.
 - Donante cadáver: Tipaje HLA-A*, HLA-B*, HLA-C*, HLA-DRB1*, HLA-DQA1* y HLA-DQB1* baja resolución.
- Trasplante de precursores hematopoyéticos:
 - Estudios familiares: Tipaje HLA-A*, HLA-B*, HLA-C*, HLA-DRB1*, HLA-DQB1* y HLA-DPB1* de alta resolución.
 - Búsqueda de donantes no emparentados: Tipaje HLA-A*, HLA-B*, HLA-C*, HLA-DRB1*, HLA-DQB1* y HLA-DPB1* de alta resolución (enfermo y posibles donantes).
 - Estudio de donantes voluntarios de médula ósea: Tipaje HLA-A*, HLA-B*, HLA-C*, HLA-DRB1*, HLA-DQB1* y HLA-DPB1* de alta resolución.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Histocompatibilidad:

- Tipaje HLA receptor de trasplante renal o cardíaco: Máximo 15 días.
- Tipaje HLA donante cadáver: Máximo 5 horas desde la recepción de la muestra.
- Tipaje HLA donante vivo: Máximo 15 días.
- Tipaje HLA donante voluntario de médula ósea: Máximo 90 días.
- Ampliación de tipaje de donante voluntario de médula ósea: Máximo 15 días.
- Estudio familiar de compatibilidad para TPH: Máximo 15 días dependiendo de cuando lleguen todos los individuos estudiados.

- Estudio confirmatorio de compatibilidad donante-receptor emparentados: Máximo 5 días desde la recepción de todas las muestras necesarias para el estudio.
- Búsqueda de donante no emparentado: Máximo 7 días desde la recepción de todas las muestras necesarias para el estudio.
- Estudio de compatibilidad de donante no emparentado para TPH: Máximo 15 días.
- Estudio confirmatorio donante no emparentado: Máximo 5 días desde la recepción de la muestra.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alejandro Madrigal J, Barber LD. Matching inside and outside the HLA molecule in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica*. 2016 Oct;101(10):1131-1132.
2. Moyer AM, Hashmi SK, Kroning CM, Kremers WK, De Goey SR, Patnaik M, Litzow M, Gastineau DA, Hogan WJ, Jacob EK, Kreuter JD, Wakefield LL, Gandhi MJ. Clinical outcomes of HLA-DPB1 mismatches in 10/10 HLA-matched unrelated donor-recipient pairs undergoing allogeneic stem cell transplant. *Eur J Haematol*. 2017 Sep;99(3):275-282.
3. Nassar M, Elshafey M, Gonzalez C, Nso N, Mahdi M, Elsayed I. Induction Therapy, HLA Mismatching, and Standard-Risk Kidney Transplantation. *Am J Nephrol*. 2021;52(8):691
4. Wiebe C, Nickerson PW. Role of HLA molecular mismatch in clinical practice. *Hum Immunol*. 2022 Mar;83(3):219-224
5. Duquesnoy RJ, Claas FH. 14th International HLA and Immunogenetics Workshop: report on the structural basis of HLA compatibility. *Tissue Antigens*. 2007;69 Suppl 1:180-4.
6. Zeevi A, Girnita A, Duquesnoy R. HLA antibody analysis: sensitivity, specificity, and clinical significance in solid organ transplantation. *Immunol Res*. 2006;36(1-3):255-64.
7. Iannone R, Davies SM. Tissue typing for hematopoietic cell transplantation: newer techniques and newer antigens for which cross-matching is helpful. *Pediatr Transplant*. 2005;9 Suppl 7:76-80.
8. Petersdorf EW, Malkki M. Human leukocyte antigen matching in unrelated donor hematopoietic cell transplantation. *Semin Hematol*. 2005;42(2):76-84.
9. Petersdorf EW. HLA matching in allogeneic stem cell transplantation. *Curr Opin Hematol*. 2004 Nov;11(6):386-91.
10. Zachary AA, Kopchaliiska D, Jackson AM, Leffell MS. Immunogenetics and immunology in transplantation. *Immunol Res*. 2010 Jul;47(1-3):232-9.

DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-HLA

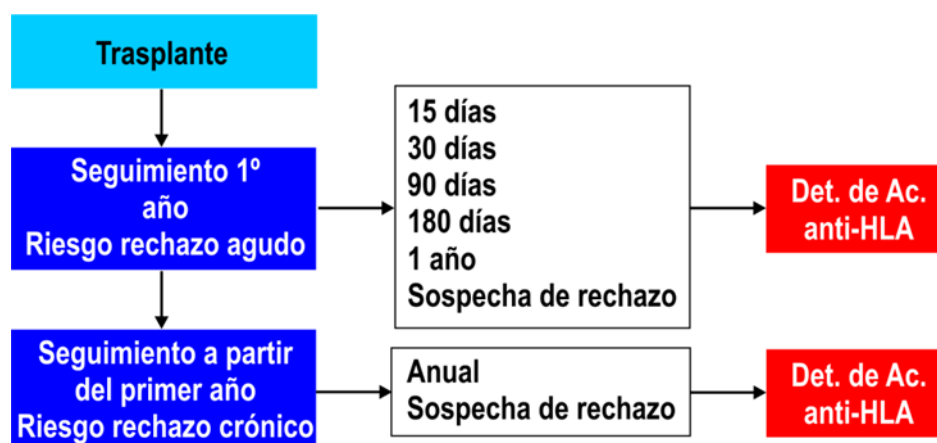
INFORMACIÓN CLÍNICA.

Debido al elevado grado de polimorfismo que presentan las moléculas HLA, la producción de anticuerpos específicos de estas es una complicación habitual consecuencia de. Dependiendo de la velocidad con la que se produzca, se distinguen 4 tipos de rechazo: El rechazo hiperagudo, que se produce sólo horas o incluso minutos después de realizado el injerto, y el rechazo acelerado que se manifiesta durante los primeros días postrasplante se producen, en la mayoría de los casos, por la presencia de anticuerpos preexistentes en el suero del receptor frente a las moléculas HLA del donante. El rechazo agudo, es aquel que se produce en los primeros meses postrasplante. No se conoce el mecanismo exacto por el que se produce un rechazo agudo, pero los hallazgos histológicos y la respuesta a la terapia inmunosupresora indican que en él intervienen tanto la inmunidad específica (humoral y celular) como otros mecanismos no específicos (respuesta inflamatoria con estimulación de polimorfonucleares, plaquetas y macrófagos, etc.). Por último, el rechazo crónico, se produce meses o años después del trasplante y su etiología no se conoce con exactitud, aunque se sabe que los anticuerpos anti-HLA, especialmente frente clase II, juegan un papel muy relevante. La presencia en los órganos injertados de moléculas HLA distintas a las del receptor (situación de incompatibilidad HLA) provoca en éste el desarrollo de anticuerpos y células T citotóxicas dirigidas frente a dichas moléculas, lo que conduce al rechazo de dicho órgano. Por el contrario, si las moléculas HLA presentes en el órgano injertado son iguales a las del receptor (situación de compatibilidad HLA), se reduce en gran medida la incidencia y la severidad del rechazo, aumentando por tanto la supervivencia del injerto. Además, la aparición en la fase crónica del trasplante de anticuerpos frente a los antígenos de clase II está claramente asociada con la aparición de rechazo crónico y con la consecuente pérdida del injerto.

UTILIDAD CLÍNICA DEL ESTUDIO

La presencia de anticuerpos anti HLA se relaciona con la aparición de rechazo. Sin embargo hay que diferenciar claramente la utilidad práctica de esta determinación, dependiendo de la fase del trasplante en la que nos encontremos:

1. **Pre-trasplante:** En esta fase los anticuerpos se originan por sensibilización previa de los pacientes debida a transfusiones, trasplantes previos y embarazos. Se determinan con el fin de prevenir el rechazo, especialmente el hiperagudo, aunque también el agudo acelerado. Conocer la presencia de estos anticuerpos permite evitar el trasplante de un órgano portador de los antígenos HLA que reconocen. Para su detección se emplean técnicas celulares (CDC o citotoxicidad dependiente del complemento y citometría de flujo) y técnicas de "multiplex beads array" basada en la tecnología Luminex. La detección se realiza a todos los pacientes de la lista de espera cada tres meses.
2. **Postrasplante:** Los anticuerpos son consecuencia directa de la sensibilización del sistema inmune



del donante por el contacto con el órgano trasplantado. Se desarrollan inicialmente anticuerpos contra los antígenos del donante no compatibles con el receptor aunque luego pueden aparecer frente a otros antígenos HLA. La detección se realiza de acuerdo al protocolo adjunto y tiene como finalidad el diagnóstico del rechazo y la prevención de este mediante la detección precoz de anticuerpos anti-HLA.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

La detección de anticuerpos anti-HLA se realiza en la actualidad empleando dos técnicas diferentes:

- **Citotoxicidad dependiente del complemento (CDC):** El CDC, ampliamente conocido y clásicamente utilizado en los laboratorios de histocompatibilidad, emplea un panel de linfocitos viables (alrededor de 60) con un fenotipo HLA conocido representativo de la población general, que se añaden en cada uno de los pocillos de una placa de Terasaki. Dichos linfocitos se incuban con el suero problema en presencia de complemento. La presencia de anticuerpos frente a los antígenos que expresan los linfocitos activan el complemento y lisan las células. Esta lisis se detecta utilizando una mezcla de colorantes fluorescentes; naranja de acridina que tiñe de verde las células vivas y bromuro de etidio que tiñe de naranja las muertas. La detección la realiza el facultativo observando las células mediante un microscopio de fluorescencia.
- **Detección en "fase sólida" mediante la tecnología XMap de Luminex®:** esta técnica permite realizar hasta 100 combinaciones de antígenos en una sola suspensión y un mismo ensayo de forma semiautomática utilizando micropartículas a las que se unen los distintos antígenos HLA. En ese tubo se incuban las micropartículas con el suero a estudio y tras los lavados pertinentes se añadiría un Ac anti-IgG humana conjugado a fluorocromos. La presencia de Ac se objetiva en el citómetro de flujo al incidir sobre la muestra un haz de láser, el cual excita el fluorocromo que va conjugado al Ac y emite luz a una determinada longitud de onda. Existen dos tipos diferentes de kits. El denominado de "screening", permite evaluar de manera rápida y en un solo tubo la presencia o ausencia de anticuerpos tanto para clase I como para clase II. Los denominados "single antigen" utilizan tubos diferentes para clase I y clase II. A cada una de las 100 bolas de la suspensión se ha unido un antígeno HLA concreto. Esto permite identificar de forma precisa la especificidad de los anticuerpos anti-HLA del paciente. Permite además evaluar de forma indirecta utilizando la medida de la intensidad media de fluorescencia (mean fluorescence intensity, MFI) el título de anticuerpos.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre sin anticoagulante. (Contenedor): Tubo de tapón rojo.

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial, aunque es muy recomendable la obtención de la muestra con el paciente en ayunas.

VALORES DE REFERENCIA

No existen valores de corte ya que estos son específicos para cada paciente, aunque generalmente se asume como positivo un valor de MFI mayor de 1.000 unidades en los test de "Single Antigen".

VALORES CRITICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El resultado que se informa es:

- Estudio pretrasplante:
 - Negativos. No se detectan anticuerpos anti HLA.
 - Positivos: se detectan anticuerpos anti-HLA. Se especifican de forma separada las especificidades antigénicas de clase I y clase II frente a las cuales se detectan anticuerpos. Estos son los antígenos que deben evitarse en el momento de seleccionar un donante adecuado para este paciente.
 - Valor de MFI: se especifica el valor máximo de MFI frente a los antígenos frente a los que se detectan anticuerpos. Este valor nos permite englobar las especificidades detectadas en tres grupos:
 - MFI >10000.
 - MFI 5000-10000.
 - MFI <5000.
 - Estos valores pueden ser útiles a la hora de afrontar una posible desensibilización del receptor.
- Estudio postrasplante:
 - Negativos. No se detectan anticuerpos anti HLA.

- Positivos: se detectan anticuerpos. Se especifican de forma separada las especificidades antigénicas de clase I y clase II frente a las cuales se detectan anticuerpos. Se especifican además los anticuerpos específicos de los antígenos del donante en el caso de que aparezcan.
 - Valor de MFI: se especifica el valor máximo de MFI frente a los antígenos frente a los que se detectan anticuerpos. Este valor nos permite englobar las especificidades detectadas en tres grupos:
 - MFI >10000.
 - MFI 5000-10000.
 - MFI <5000.
 - Estos valores pueden ser útiles en la monitorización de la efectividad del tratamiento del rechazo.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Histocompatibilidad:

- Anticuerpos anti-HLA pre-trasplante renal primera determinación: Máximo 15 días.
- Anticuerpos anti-HLA pre-trasplante renal trimestrales: Máximo 20 días.
- Anticuerpos anti-HLA pre-trasplante cardíaco: Máximo 7 días.
- Anticuerpos anti-HLA pre-trasplante cardíaco (Alarma 0): Máximo 7 horas desde la recepción de la muestra.
- Anticuerpos anti-HLA pre-trasplante de precursores hematopoyéticos: Máximo 20 días.
- Anticuerpos anti-HLA post-trasplante renal de protocolo: Máximo 20 días.
- Anticuerpos anti-HLA post-trasplante renal con sospecha de rechazo: Máximo 5 días.
- Anticuerpos anti-HLA post-trasplante cardíaco con sospecha de rechazo: Máximo 5 días.
- Anticuerpos anti-HLA en patología postrasfusional: Máximo 15 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rodríguez Cubillo B, Pérez Flores I, Calvo N, Pascual A, Cortés JA, Moreno MA, Blanco J, Sánchez Fructuoso A. Antibody-Mediated Acute Vascular Rejection of Kidney Allografts: Fifteen-Year Follow-up. *Transplant Proc.* 2016 Nov;48(9):2917-2919.
2. Terasaki PI. Humoral theory of transplantation. *Am J Transplant* 2003 3: 665-673.
3. McKenna RM, Takemoto SK, Terasaki PI. Anti-HLA antibodies after solid organ transplantation. *Transplantation* 2000 69: 319-326.
4. Pei R, Lee J-H, Shih N-J, Chen M, Terasaki PI. Single human leukocyte antigen flow cytometry beads for accurate identification of human leukocyte antigen antibody specificities. *Transplantation* 2003, 75: 43-49.
5. Lee P-C, Terasaki PI, Takemoto SK, Lee P-H, Hung C-J, Chen Y-L, Tsai A, Lei H-Y: All chronic rejection failures of kidney transplants were preceded by the development of HLA antibodies. *Transplantation* 2002, 74: 1192-1194.
6. Loupy A, Hill GS, Jordan SC. The impact of donor-specific anti-HLA antibodies on late kidney allograft failure. *Nat Rev Nephrol.* 2012 ;8(6):348-57.
7. Lefaucheur C, Loupy A, Vernerey D, Duong-Van-Huyen JP, Suberbielle C, Anglicheau D, Vérine J, Beuscart T, Nochy D, Bruneval P, Charron D, Delahousse M, Empana JP, Hill GS, Glotz D, Legendre C, Jouven X. Antibody-mediated vascular rejection of kidney allografts: a population-based study. *Lancet.* 2012 Nov 22.
8. Bentall A, Cornell LD, Gloor JM, Park WD, Gandhi MJ, Winters JL, Chedid MF, Dean PG, Stegall MD. Five-Year outcomes in living donor Kidney Transplants with a positive crossmatch. *Am J Transplant.* 2012 Oct 16.

PRUEBA CRUZADA PRETRASPLANTE.

INFORMACIÓN CLÍNICA.

Debido al elevado grado de polimorfismo que presentan las moléculas HLA, la producción de anticuerpos específicos de estas es una complicación habitual consecuencia de Dependiendo de la velocidad con la que se produzca, se distinguen 4 tipos de rechazo: El rechazo hiperagudo, que se produce sólo horas o incluso minutos después de realizado el injerto, y el rechazo acelerado que se manifiesta durante los primeros días postrasplante se producen, en la mayoría de los casos, por la presencia de anticuerpos preexistentes en el suero del receptor frente a las moléculas HLA del donante. El rechazo agudo, es aquel que se produce en los primeros meses postrasplante. No se conoce el mecanismo exacto por el que se produce un rechazo agudo, pero los hallazgos histológicos y la respuesta a la terapia inmunosupresora indican que en él intervienen tanto la inmunidad específica (humoral y celular) como otros mecanismos no específicos (respuesta inflamatoria con estimulación de polimorfonucleares, plaquetas y macrófagos, etc.). Por último, el rechazo crónico, se produce meses o años después del trasplante y su etiología no se conoce con exactitud, aunque se sabe que los anticuerpos anti-HLA, especialmente frente clase II, juegan un papel muy relevante. La presencia en los órganos injertados de moléculas HLA distintas a las del receptor (situación de incompatibilidad HLA) provoca en éste el desarrollo de anticuerpos y células T citotóxicas dirigidas frente a dichas moléculas, lo que conduce al rechazo de dicho órgano. Por el contrario, si las moléculas HLA presentes en el órgano injertado son iguales a las del receptor (situación de compatibilidad HLA), se reduce en gran medida la incidencia y la severidad del rechazo, aumentando por tanto la supervivencia del injerto. Además, la aparición en la fase crónica del trasplante de anticuerpos frente a los antígenos de clase II está claramente asociada con la aparición de rechazo crónico y con la consecuente pérdida del injerto.

UTILIDAD CLÍNICA DEL ESTUDIO

La presencia de anticuerpos anti HLA se relaciona con la aparición de rechazo. Sin embargo, hay que diferenciar claramente la utilidad práctica de esta determinación. En la fase previa al trasplante los anticuerpos se originan por sensibilización previa de los pacientes debida a transfusiones, trasplantes previos y embarazos. Se determinan con el fin de prevenir el rechazo, especialmente el hiperagudo, aunque también el agudo acelerado. Conocer la presencia de estos anticuerpos permite evitar el trasplante de un órgano portador de los antígenos HLA que reconocen. Para su detección se realiza una prueba cruzada que consiste en enfrentar linfocitos de los posibles donantes con el suero del receptor. Para realizar esta prueba se emplean técnicas celulares (CDC o citotoxicidad dependiente del complemento y citometría de flujo). La detección se realiza a todos los pacientes de la lista de espera cada tres meses.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

La realización de la prueba cruzada pretrasplante donante-receptor se realiza en la actualidad empleando dos técnicas diferentes:

- **Citotoxicidad dependiente del complemento (CDC):** El CDC, ampliamente conocido y clásicamente utilizado en los laboratorios de histocompatibilidad, emplea células del posible donante que se depositan en los pocillos de una placa de Terasaki. Dichos linfocitos se incuban con el suero de los receptores en presencia de complemento. La presencia de anticuerpos frente a los antígenos que expresan los linfocitos activan el complemento y lisan las células. Esta lisis se detecta utilizando una mezcla de colorantes fluorescentes; naranja de acridina que tiñe de verde las células vivas y bromuro de etidio que tiñe de naranja las muertas. La detección la realiza el facultativo observando las células mediante un microscopio de fluorescencia. Es la forma habitual de realizar la prueba cruzada en una guardia de trasplantes.
- **Prueba cruzada por citometría de flujo:** esta técnica permite analizar de forma independiente la presencia de anticuerpos anti HLA de clase I y clase II. Consiste en enfrentar en un tubo células del donante con un suero del receptor en presencia de un anticuerpo frente a la molécula CD3 (específica de linfocitos T) para clase I y en otro tubo en presencia de un anticuerpo anti-CD19 (específico de linfocitos B) para clase II. Ambos anticuerpos están marcados con un fluorocromo. Se añade en ambos tubos un anticuerpo monoclonal de ratón anti-IgG humana marcado con otro fluorocromo. El análisis por citometría de flujo detectará la unión específica de anticuerpos anti-HLA de clase I a los linfocitos T, y de clase I y clase II a los linfocitos B, en el caso de que estén presentes en el suero del receptor. Esta técnica se usa solamente en los casos de trasplante con donante vivo.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

1. Sangre sin anticoagulante. (Contenedor): Tubo de tapón rojo para el paciente.
2. Sangre con anticoagulante heparina. Contenedor: Tubo de tapon verde para el donante (Trasplante de donante vivo).
3. Ganglio linfático o bazo (Trasplante de donante cadáver).

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial, aunque es muy recomendable la obtención de la muestra con el paciente en ayunas.

VALORES DE REFERENCIA

No existen valores de referencia ya que el resultado es positivo o negativo.

VALORES CRITICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El resultado que se informa es:

- Negativos. No se detectan anticuerpos anti HLA. Se puede realizar el trasplante
- Positivos: se detectan anticuerpos citotóxicos. La positividad de una prueba cruzada pretrasplante donante-receptor es una contraindicación absoluta para la realización del trasplante.
- Existe una excepción en aquellos casos en los que se ha demostrado la presencia de autoanticuerpos antilinfocitarios mediante una auto prueba cruzada. En esos casos si no se detectan anticuerpos anti-HLA donante específicos por Luminex, la prueba cruzada positiva no contraindica el trasplante.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Histocompatibilidad:

- Prueba cruzada pre-trasplante donante cadaver: Máximo 5 horas desde la recepción de la muestra.
- Prueba cruzada pre-trasplante donante vivo (estudio inicial): Máximo 7 días.
- Prueba cruzada pre-trasplante donante vivo (estudio día del trasplante): Máximo 5 horas desde la recepción de la muestra.

BIBLIOGRAFÍA

1. Terasaki PI. Humoral theory of transplantation. Am J Transplant 2003 3: 665-673.
2. McKenna RM, Takemoto SK, Terasaki PI. Anti-HLA antibodies after solid organ transplantation. Transplantation 2000 69: 319-326.
3. Pei R, Lee J-H, Shih N-J, Chen M, Terasaki PI. Single human leukocyte antigen flow cytometry beads for accurate identification of human leukocyte antigen antibody specificities. Transplantation 2003, 75: 43-49.
4. Lee P-C, Terasaki PI, Takemoto SK, Lee P-H, Hung C-J, Chen Y-L, Tsai A, Lei H-Y: All chronic rejection failures of kidney transplants were preceded by the development of HLA antibodies. Transplantation 2002, 74: 1192-1194.
5. Loupy A, Hill GS, Jordan SC. The impact of donor-specific anti-HLA antibodies on late kidney allograft failure. Nat Rev Nephrol. 2012 ;8(6):348-57.
6. Lefaucheur C, Loupy A, Vernerey D, Duong-Van-Huyen JP, Suberbielle C, Anglicheau D, Vérine J, Beuscart T, Nochy D, Bruneval P, Charron D, Delahousse M, Empana JP, Hill GS, Glotz D, Legendre C, Jouven X. Antibody-mediated vascular rejection of kidney allografts: a population-based study. Lancet. 2012 Nov 22.

7. Bentall A, Cornell LD, Gloor JM, Park WD, Gandhi MJ, Winters JL, Chedid MF, Dean PG, Stegall MD. Five-Year outcomes in living donor Kidney Transplants with a positive crossmatch. *Am J Transplant*. 2012 Oct 16.
8. South AM, Grimm PC. Transplant immuno-diagnostics: crossmatch and antigen detection. *Pediatr Nephrol*. 2016 Jun;31(6):897-905. doi: 10.1007/s00467-015-3145-z
9. Olszowska-Zaremba N, Zagożdżon R, Gozdowska J. Accuracy of virtual crossmatch (VXM) prediction of physical crossmatch (PXM) results of donor specific antibody (DSA) in routine pretransplant settings-a single-center experience. *Transpl Immunol*. 2022 Mar 18;72:101583.

ESTUDIO DE MARCADORES DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER EN LCR

INFORMACIÓN CLÍNICA

El estudio consiste en la cuantificación de Beta-amiloide 1-42 (Ab1-42), Ab1-40 (para calcular el cociente Ab1-42/Ab1-40), Tau total (t-Tau) y Tau fosforilada (p-Tau) en líquido cefalorraquídeo (LCR) para diagnóstico de Enfermedad de Alzheimer (EA). Los niveles en LCR de estos marcadores reflejan los cambios neuropatológicos que definen la EA, que son la formación de las placas amiloides y los ovillos neurofibrilares. Los niveles reducidos de Ab1-42 o del ratio Ab1-42/Ab1-40 se correlacionan con la presencia en el cerebro de depósitos de amiloide fibrilar en forma de placas amiloides y angiopatía amiloide, lo que permite un diagnóstico preclínico o precoz. Además, los niveles de ambos parámetros muestran correlación inversa (90%) con la carga amiloide cerebral medida por PET en pacientes con EA. La causa de la reducción del Ab1-42 no está completamente aclarada, pero se postula que se debe a la agregación de estas moléculas formándose depósitos insolubles de amiloide, bien en el parénquima cerebral o en la pared de los vasos. Los niveles de Ab1-40, por el contrario, no se alteran en la EA, aunque sí en otras enfermedades como la demencia frontotemporal o la vascular. Por este motivo, el ratio Ab1-42/Ab1-40 es más específico que los niveles de Ab1-42 aislados para la detección de la amiloidosis cerebral.

Por otra parte, las concentraciones de Tau están elevadas en la Enfermedad de Alzheimer. El aumento de Tau total es inespecífico, pero se correlaciona con la severidad de la enfermedad con mayores concentraciones asociadas a mayor deterioro cognitivo. Además, en la Enfermedad de Alzheimer, Tau se fosforila de forma anómala lo que da lugar a la formación de filamentos helicoidales apareados insolubles que forman los ovillos neurofibrilares (ONF) y placas neuríticas. Esto conduce a una pérdida de función y alteración del transporte axonal. Tau fosforilada en treonina 181 (p-Tau_{181p}) y Tau fosforilada en treonina 231 (p-Tau₂₃₁) son marcadores específicos de Enfermedad de Alzheimer, relacionados con la formación de estos ovillos neurofibrilares. Se correlacionan con pérdida de memoria declarativa y atrofia de la sustancia gris en lóbulo temporal medial.

UTILIDAD CLÍNICA DEL ESTUDIO

Los criterios diagnósticos propuestos por el grupo de trabajo internacional, en sus sucesivas revisiones, y por el National Institute of Aging-Alzheimer's Association (NIA-AA) establecen que, en presencia de síntomas compatibles, se puede establecer un diagnóstico fisiopatológico de EA cuando se evidencia un descenso de los niveles de Ab1-42 como marcador de amiloidosis, y una elevación de los niveles de proteína t-Tau o p-Tau, como marcador de daño neuronal. En 2018, el NIA-AA propuso que el cociente Ab1-42/Ab1-40 también pueda ser utilizado como marcador de amiloidosis. De hecho, varios estudios demuestran que el cociente refleja mejor la presencia de amiloidosis cerebral que la medición aislada de Ab1-42. En cuanto a las proteínas Tau, la propuesta del NIA-AA considera a p-Tau como un marcador de patología neurofibrilar, más específico de EA, mientras que t-Tau sería un marcador de neurodegeneración o daño neuronal menos específico.

Según estos criterios, el diagnóstico de la EA se basaría en el hallazgo de niveles alterados en el LCR de un marcador de amiloidosis (Ab1-42 o Ab1-42/Ab1-40) y de un marcador de patología neurofibrilar (p-Tau) en pacientes con fenotipo específico de EA. Aquellos individuos con biomarcadores positivos sin deterioro cognitivo deben considerarse en riesgo de progresión a la enfermedad de Alzheimer.

Según la Guía Oficial de Práctica Clínica en Demencia de la Sociedad Española de Neurología (2018), que recoge las recomendaciones de los grupos de trabajo internacionales, las situaciones en que es apropiado el uso de técnicas para evaluar marcadores fisiopatológicos de la EA serían:

- Deterioro cognitivo ligero persistente o progresivo de etiología no aclarada (especialmente en menores de 75 años).
- Curso atípico o presentación mixta (donde pueda existir otra causa pero con sospecha de componente de patología de EA que contribuye al cuadro clínico).
- Demencia de inicio temprano (menores de 65 años).

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

La determinación de los cuatro marcadores se realiza en LCR mediante la técnica de chemiluminescent enzyme immunoassay (CLEIA), utilizando el equipo LUMIPULSE G600II de Fujirebio.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Líquido cefalorraquídeo en tubo de polipropileno. La utilización de tubos de otro material puede falsear el resultado final.

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No se requiere una preparación especial.

VALORES DE REFERENCIA

No existe un consenso general para los valores de normalidad de estos marcadores por la posible variabilidad introducida con el procesamiento preanalítico y la técnica utilizada, siendo la recomendación que cada centro establezca los suyos. Los valores de normalidad considerados en nuestro laboratorio son los recomendados por la casa comercial de los reactivos utilizados, ya que se siguen sus recomendaciones técnicas en todo el proceso pre- y analítico.

Valores de normalidad:

Ab1-42 > 599 pg/mL

Ab1-42/Ab1-40 > 0,069

t-Tau Z < 404 pg/mL

p-Tau < 56,5 pg/mL

VALORES CRITICOS

No aplica

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El resultado que se informa es:

Se informan los valores obtenidos para los marcadores Ab1-42, Ab1-42/Ab1-40, t-Tau y p-Tau.

La interpretación de los resultados puede hacerse en base a la siguiente tabla (extraída del libro "Estudio de LCR en la Enfermedad de Alzheimer"):

		Neurodegeneración / patología neurofibrilar	
		t-Tau o p-Tau	
Amiloidosis		Normal	Alterado
	Ab1-42	Normal	
	Ab1-42/Ab1-40 (preferible)	Alterado	Compatible con EA (no descarta copatología)

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Laboratorio de Histocompatibilidad: Máximo 3 meses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Llano DA, Devanarayan V, Simon AJ; The Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI). Evaluation of Plasma Proteomic Data for Alzheimer Disease State Classification and for the Prediction of Progression From Mild Cognitive Impairment to Alzheimer Disease. Alzheimer Dis Assoc Disord. 2012 Sep 27.

2. Ozerlat I. Alzheimer disease: CSF biomarkers could be used in A β immunotherapy trials for AD. *Nat Rev Neurol*. 2012;8(6):297.
3. Seppälä TT, Nerg O, Koivisto AM, Rummukainen J, Puli L, Zetterberg H, Pyykkö OT, Helisalmi S, Alafuzoff I, Hiltunen M, Jääskeläinen JE, Rinne J, Soininen H, Leinonen V, Herukka SK. CSF biomarkers for Alzheimer disease correlate with cortical brain biopsy findings. *Neurology*, 2012;78(20):1568-75.
4. Shaw LM, Arias J, Blennow K, Galasko D, Molinuevo JL, Salloway S, Schindler S, Carrillo MC, Hendrix JA, Ross A, Illes J, Ramus C, Fifer S. Appropriate use criteria for lumbar puncture and cerebrospinal fluid testing in the diagnosis of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2018 Nov;14(11):1505-1521.
5. Jack CR Jr, Bennett DA, Blennow K, Carrillo MC, Dunn B, Haeberlein SB, Holtzman DM, Jagust W, Jessen F, Karlawish J, Liu E, Molinuevo JL, Montine T, Phelps C, Rankin KP, Rowe CC, Scheltens P, Siemers E, Snyder HM, Sperling R; Contributors. NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2018 Apr;14(4):535-562. doi: 10.1016/j.jalz.2018.02.018. PMID: 29653606; PMCID: PMC5958625.
6. Hansson O, Lehmann S, Otto M, Zetterberg H, Lewczuk P. Advantages and disadvantages of the use of the CSF Amyloid β (A β) 42/40 ratio in the diagnosis of Alzheimer's Disease. *Alzheimers Res Ther*. 2019 Apr 22;11(1):34.
7. Dubois B, Villain N, Frisoni GB, Rabinovici GD, Sabbagh M, Cappa S, Bejanin A, Bombois S, Epelbaum S, Teichmann M, Habert MO, Nordberg A, Blennow K, Galasko D, Stern Y, Rowe CC, Salloway S, Schneider LS, Cummings JL, Feldman HH. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: recommendations of the International Working Group. *Lancet Neurol*. 2021 Jun;20(6):484-496.
8. Lleó A, Alcolea A. Estudio de LCR en la Enfermedad de Alzheimer. FaceMedical, 2020.

ÁCIDO MICOFENÓLICO

INFORMACIÓN CLÍNICA

El ácido micofenólico (MPA) es un inmunosupresor utilizado en trasplantes de órganos sólidos y de progenitores hematopoyéticos y en el tratamiento de enfermedades autoinmunes. Actúa como inmunosupresor inhibiendo la síntesis "de novo" de las purinas por inhibición reversible, no competitiva de la actividad de la enzima inosinamonofosfato-dehidrogenasa (IMPDH), consecuentemente se reduce la producción de nucleótidos de guanina y se bloquea la proliferación de linfocitos T y B.

EL MPA es metabolizado en el hígado por glucuronidación para formar:

- *Glucoronido conjugado de ácido micofenólico (MPAG)* que es el metabolito mayoritario e inactivo farmacológicamente. MPAG puede ser reconvertido a MPA mediante la circulación enterohepática (EHC) y puede contribuir entre el 10-60% de la concentración del área bajo la curva del MPA.
- *7-O-glucósido conjugado de ácido micofenólico* ó metabolito M1 sin actividad inmunosupresora.
- El metabolito M2, *Acyl-glucoronido conjugado de ácido micofenólico* con actividad inmunosupresora y con reactividad cruzada con el anticuerpo anti-MPA utilizado en el sistema analítico para cuantificar MPA total en plasma (la fracción libre + unida a albúmina). En individuos sanos el 93% del MPA es excretado por orina mayormente como MPAG mientras que el 6% es eliminado en heces.

La vida media del MPA es aproximadamente 17 horas. Después de una dosis vía oral en plasma se ven 2 picos, el primero de 1-2 horas después de su administración y un segundo pico 6-12 horas más tarde debido a la recirculación enterohepática del MPA.

La unión del MPA a albúmina es mayor del 97%. El efecto farmacológico (Inmunosupresor + efectos adversos) del MPA está directamente relacionado con su forma libre (f-MPA). La farmacocinética del MPA varía con el órgano trasplantado y el tiempo post-trasplante debido a la redistribución del MPA por disminución de proteínas, acumulación de MPAG si existe retraso en la función del órgano trasplantado, si la circulación enterohepática esta incrementada, etc

La combinación de MPA con tacrolimus incrementa la concentración de MPA en sangre. Acyclovir puede modificar la excreción de MPA por competición en la secreción tubular.

UTILIDAD CLÍNICA

Monitorizar la concentración en sangre en pacientes trasplantados o con enfermedades autoinmunes para evitar efectos adversos y mantener un bajo riesgo de rechazo del órgano trasplantado o de exacerbación de la patología autoinmune.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

Para su determinación se utiliza el método *CEDIA MPA assay de Thermo Scientific*. El equipo utilizado para su detección es el sistema Architect de Abbott.

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

La concentración de ácido micofenólico se monitoriza mediante la medición de la concentración mínima, pre-dosis, es decir, la extracción de la muestra se realiza ANTES de tomar la dosis del fármaco.

En el caso que el paciente reciba el tratamiento por vía intravenosa la extracción de la muestra se realizará por otra vía distinta y contralateral a la de administración.

El paciente debe estar en ayunas sólo si tiene otras analíticas solicitadas que lo requieran.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre con EDTA (Contenedor: tubo de tapón morado 5 ml). Es necesario anotar la fecha y hora en la que se realiza la extracción, así como la fecha y hora de última dosis. Las muestras se pueden almacenar hasta 7 días refrigeradas de 2°C a 8°C. Si se almacena + de 7 días, entonces congelar a -20°C separando previamente el plasma por centrifugación.

VALORES DE REFERENCIA

No existe un intervalo terapéutico para MPA en sangre. Existen una serie de factores que contribuyen a que difieran las concentraciones óptimas. Dichos factores son:

- El tipo de trasplante o patología autoinmune.
- El tiempo post-trasplante.
- La administración simultánea de otros inmunosupresores.
- La administración concomitante de otros fármacos que puedan interferir el metabolismo o en la distribución del MPA. De este modo, los salicilatos, la furosemida, etc. incrementan la fracción libre que es responsable del efecto farmacológico.

A cada paciente se le ajustara la dosis de acuerdo al protocolo que su médico aplique. Es recomendable que los resultados de todos los inmunosupresores que toma un paciente figuren en un único informe.

Siempre se debe tener presente que la concentración óptima es la mínima cantidad necesaria para evitar el rechazo y los efectos adversos.

VALORES CRÍTICOS

Niveles >4mg/mL en pacientes estable son supratrapéuticos y podrían aumentar el riesgo de infecciones en el paciente.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Los niveles de MPA obtenidos en el laboratorio han de ser valorados de acuerdo con el protocolo de tratamiento específico y en el contexto de la medicación concomitante.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunodeficiencias: Los resultados de la monitorización de fármacos inmunosupresores se emiten el mismo día de la extracción excepto para Everolimus, Sirolimus/rapamicina y Ácido Micofenólico que debido a que el número de muestras que se analizan semanalmente es más bajo, las muestras se analizan los Lunes y Jueves manteniéndolas almacenadas máximo 3 días a 4°C.

Si el clínico necesita saber la concentración de uno de estos fármacos el mismo día de la extracción debe llamar al laboratorio, tel :36394 para advertir y solicitar el análisis.

BIBLIOGRAFÍA

1. *Lesli M. Shaw et al.* Mycophenolate Mofetil: A report of the Consensus Panel. Therapeutic Drug Monitoring 1995 ; 17 : 690-699
2. *Theodore M. Sievers et al.* Reviews of therapeutics Micophenolate Mofetil. Pharmacotherapy 1997, 17: 1178-1197
3. <https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/overview/81563#Clinical-and-Interpretive>

CICLOSPORINA

INFORMACIÓN CLÍNICA

La ciclosporina es un potente inmunosupresor de origen fúngico (*Tolypocladium inflatum*). Se utiliza en el tratamiento inmunosupresor para trasplantes de órganos sólidos y de progenitores hematopoyéticos y en algunas enfermedades autoinmunes. Actúa inhibiendo la transcripción del gen de IL2. La ciclosporina inhibe la calcineurina y por tanto se bloquea la desfosforilación de factores de transcripción nucleares en linfocitos T activados y consecuentemente su translocación del citoplasma al núcleo. Este efecto inmunosupresor se acompaña de otros efectos tóxicos. El más notable es su nefrotoxicidad aguda y crónica además de hipertensión, hiperlipemia, hiperplasia gingival, hipercalemia, neurotoxicidad, hipomagnesemia, hiperuricemia, hirsutismo y microangiopatía trombótica (1).

La ciclosporina se puede administrar por vía oral e intravenosa. La absorción en el tracto gastrointestinal es variable, impredecible e incompleta. La biodisponibilidad de la ciclosporina en el organismo aumenta con el tiempo de tratamiento, de tal manera que las dosis orales deben disminuirse para mantener constante la concentración de ciclosporina en sangre. La ciclosporina se elimina casi completamente en el hígado por los enzimas citocromo P-450 con una vida media de 8 a 9 horas.

Muchos medicamentos afectan a la concentración de ciclosporina en sangre interfiriendo su metabolismo. Coadministración de fármacos que inhiben el sistema del citocromo P-450 (ketoconazol, eritromicina, bloqueantes de canales de calcio y otros) incrementan los niveles de ciclosporina. Mientras que fármacos inductores del sistema enzimático citocromo P-450 (fenitoína, feobarbital, carbamazepina y valproato) disminuyen los niveles de ciclosporina en sangre.

UTILIDAD CLÍNICA

Monitorizar la concentración en sangre en pacientes trasplantados o con enfermedades autoinmunes para evitar efectos adversos y mantener un bajo riesgo de rechazo del órgano trasplantado o de exacerbación de la patología autoinmune.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

Architect-Abbott – procedimiento es un inmunoanálisis de dos pasos:

- **1º Paso:** Se combina la muestra (previamente sometida a un pre-tratamiento manual para hemolizar y extraer la muestra), el diluyente de ensayo y las micropartículas paramagnéticas recubiertas de Ac anti-ciclosporina. La ciclosporina presente en la muestra se une a estas micropartículas.
- **2º Paso:** Después del lavado se añade el conjugado de ciclosporina marcada con acridinio y se realiza otro ciclo de lavado. Finalmente se añaden las soluciones pre-activadoras y activadoras y la reacción de quimioluminiscencia resultante se mide en unidades relativas de luz (URL). Existe una relación inversamente proporcional entre la cantidad de ciclosporina presente en la muestra y las URL detectadas por el sistema óptico del Architect i System

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

La concentración de ciclosporina se monitoriza de 2 formas:

- Concentración mínima, pre-dosis, es decir, la extracción de la muestra se realiza ANTES de tomar la dosis de ciclosporina.
- Concentración después de 2 horas de haber tomado la dosis de ciclosporina.

En el caso que el paciente reciba la ciclosporina por vía intravenosa la extracción de la muestra se realizará por otra vía distinta y contralateral a la de administración.

El paciente debe estar en ayunas sólo si tiene otras analíticas solicitadas.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre extraída con EDTA como anticoagulante (5ml en tubo de tapón morado). Anotar la fecha y hora de extracción, así como la fecha y hora de última dosis.

VALORES DE REFERENCIA

No existe un intervalo terapéutico para la ciclosporina en sangre. Existen una serie de factores que contribuyen a que difieran las concentraciones óptimas. Dichos factores son:

- El tipo de trasplante.
- El tiempo post-trasplante.
- La administración simultánea de otros inmunosupresores.
- La administración concomitante de otros fármacos que puedan interferir el metabolismo o en la distribución de la ciclosporina. De este modo, los salicilatos, la furosemida, etc. incrementan la fracción libre que es responsable del efecto farmacológico.

A cada paciente se le ajustará la dosis de acuerdo al protocolo de trasplante que su médico aplique. Es recomendable que los resultados de todos los inmunosupresores que toma un paciente figuren en un único informe.

Y siempre se debe tener presente que la concentración óptima es la mínima cantidad necesaria para evitar el rechazo y los efectos adversos.

VALORES CRÍTICOS

Niveles >400 ng/mL en pacientes estables son supratrapéuticos y podrían resultar tóxicos y/o aumentar el riesgo de infecciones en el paciente.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Los niveles de ciclosporina obtenidos en el laboratorio han de ser valorados de acuerdo con el protocolo de tratamiento específico y en el contexto de la medicación concomitante.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunodeficiencias: Los resultados de la monitorización de ciclosporina se emiten el mismo día de la extracción. No se realiza la cuantificación de inmunosupresores los días festivos, excepto cuando haya días festivos consecutivos, en cuyo caso solo se realizará en días alternos, no pasando más de 48 horas entre cuantificaciones. Se informará previamente a los servicios trasplantadores de los días concretos en los que se realizará la técnica.

BIBLIOGRAFÍA

1. *Barry D Kahan*. Cyclosporine. The New England Journal of Medicine 1989; 321: 1725-38
2. *Ekberg H et al*. Reduced Exposure to Calcineurin Inhibitors in Renal Transplantation. The New England Journal of Medicine 2007; 357:2562-75
3. *Tedesco D, Haragsim L*. Cyclosporine: a review. Journal of Transplantation 2012;
4. *M. Oellerich et al*. Lake Louise Consensus Conference on Cyclosporin Monitoring in Organ Transplantation: Report of the Consensus Panel: Therapeutic Drug Monitoring 1995, 17: 642-654

TACROLIMUS

INFORMACIÓN CLÍNICA

Es un fármaco inmunosupresor más potente que la ciclosporina. Es un antibiótico macrólido aislado de *Streptomyces tsukubaensis*. La molécula de Tacrolimus se subdivide en 2 regiones: el dominio receptor que se une a la proteína FK506 y un dominio efector a través del cual se une a la calcineurina inhibiendo su actividad fosfatasa y consecuentemente impide la desfosforilación de los factores de transcripción y su transporte al núcleo de la célula lo que lleva al bloqueo de la proliferación de linfocitos T. Este efecto inmunosupresor se acompaña de efectos tóxicos graves similares a los de la ciclosporina, pero con una incidencia un poco más baja: nefrotoxicidad, neurotoxicidad, hipertensión, insomnio, náuseas y mayor incidencia de desarrollar diabetes mellitus post- trasplante.

El tacrolimus se puede administrar por vía oral e intravenosa. La absorción en el tracto gastrointestinal es variable e irregular. El Tacrolimus se metaboliza en el hígado por la acción del citocromo P-450. El promedio de vida media de eliminación es aproximadamente 40 horas.

Muchos fármacos afectan la concentración de Tacrolimus en sangre interfiriendo su metabolismo. Coadministración de sustancias que inhiben al citocromo P450 reducen el metabolismo del Tacrolimus y aumentan los niveles en sangre (clotrimazol, fluconazol, ketoconazol, itraconazol, ciprofloxacino, eritromicina, diltiazem, nifedipino, verapamilo, zumo de pomelo) y las sustancias que actúan como inductores del citocromo P450 producen un aumento en el metabolismo del tacrolimus y una disminución de sus niveles en sangre (rifampicina, fenobarbital, fenitoína, carbamazepina, glucocorticoides, etc).

UTILIDAD CLÍNICA

Monitorizar la concentración en sangre en pacientes trasplantados o con enfermedades autoinmunes para evitar efectos adversos y mantener un bajo riesgo de rechazo del órgano trasplantado o de exacerbación de la patología autoinmune.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

Architect-Abbott – procedimiento es un inmunoanálisis de dos pasos.

- Se combina la muestra (previamente sometida a un pre-tratamiento manual para hemolizar y extraer la muestra), el diluyente de ensayo y las micropartículas paramagnéticas recubiertas de Ac anti -tacrolimus. El tacrolimus presente en la muestra se une a estas micropartículas.
- Después del lavado se añade el conjugado de tacrolimus marcado con acridinio y se realiza otro ciclo de lavado. Finalmente se añaden las soluciones pre-activadoras y activadoras y la reacción de quimioluminiscencia resultante se mide en unidades relativas de luz (URL). Existe una relación indirectamente proporcional entre la cantidad de tacrolimus presente en la muestra y las URL detectadas por el sistema óptico del Architect i System

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

La concentración de tacrolimus se monitoriza midiendo la concentración mínima, pre-dosis, es decir, la extracción de la muestra se realiza ANTES de tomar la dosis de tacrolimus. En el caso que el paciente reciba tacrolimus por vía intravenosa la extracción de la muestra se realizará por otra vía distinta y contralateral a la de administración. El paciente debe estar en ayunas sólo si tiene otras analíticas solicitadas.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre extraída con EDTA como anticoagulante Contenedor: tubo de tapón morado 5 ml.

VALORES DE REFERENCIA

No existe un intervalo terapéutico para ciclosporina en sangre. Los siguientes factores:

- El tipo de trasplante.
- El tiempo post-trasplante.
- La administración simultánea de otros inmunosupresores.
- La administración concomitante de otros fármacos que puedan interferir el metabolismo del tacrolimus.

Estos factores contribuyen a que difieran las concentraciones óptimas.

A cada paciente se le ajustara la dosis de acuerdo al protocolo de trasplante que su médico aplique. Es recomendable que los resultados de todos los inmunosupresores que toma un paciente figuren en un único informe.

Y siempre se debe tener presente que la concentración óptima es la mínima cantidad necesaria para evitar el rechazo y los efectos adversos.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Los niveles de Tacrolimus obtenidos en el laboratorio han de ser valorados de acuerdo con el protocolo de tratamiento específico y en el contexto de la medicación concomitante.

VALORES CRÍTICOS

Niveles >20 ng/mL en pacientes estables son supratrapéuticos y podrían resultar tóxicos y/o aumentar el riesgo de infecciones en el paciente.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunodeficiencias: Los resultados de la monitorización de tacrolimus se emiten el mismo día de la extracción. No se realiza la cuantificación de inmunosupresores los días festivos, excepto cuando haya días festivos consecutivos, en cuyo caso solo se realizará en días alternos, no pasando más de 48 horas entre cuantificaciones. Se informará previamente a los servicios trasplantadores de los días concretos en los que se realizará la técnica.

BIBLIOGRAFÍA

1. *WJ Jusko et al.* Consensus Document: Therapeutic Monitoring of Tacrolimus (FK506). *Therapeutic Drug Monitoring* 1995, 17: 606-614.
2. *Halloran Ph F.* Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *The NewEngland Journal of Medicine* 2004; 351:2715-29.
3. *Tavira, Beatriz, Díaz-Corte, Carmen, Coronel, Diego, Ortega, Francisco, & Coto, Eliecer.* (2014). Farmacogenética del tacrolimus: ¿del laboratorio al paciente?. *Nefrología (Madrid)*, 34(1), 11-17. <https://dx.doi.org/10.3265/Nefrologia.pre2013.Nov.12267>

RAPAMICINA Ó SIROLIMUS

INFORMACION CLINICA

Sirolimus es una lactona macrocíclica producida por fermentación por el *Streptomyces hygroscopicus*, encontrado en Rapa Nui, Isla de Pascua. El sirolimus presenta una sinergia con los inhibidores de la calcineurina, aunque su mecanismo de acción es diferente. El sirolimus se une a la proteína ligante inmunofilina, FK12, y el complejo resultante se une a la proteína mTOR (diana de la rapamicina en mamíferos), proteína específica que regula el ciclo celular e inhibe su activación. Esta inhibición de la proteína mTOR suprime la proliferación de linfocitos T producida por citoquinas, inhibiendo la progresión de la fase G1 a la fase S del ciclo celular. Estudios farmacocinéticos indican que el sirolimus se concentra principalmente en los eritrocitos y que la sangre es el medio adecuado para determinar sirolimus.

Debido a la larga semivida, se debe hacer un seguimiento de los mínimos de concentración como mínimo durante 5 a 7 días tras modificarse la dosis. Las variaciones entre el aclaramiento aparente del fármaco y la biodisponibilidad oral influyen en los mínimos de concentración que pueden diferir ampliamente entre pacientes que reciben la misma dosis.

Sirolimus es un sustrato tanto para el citocromo P450 IIIA4 (isoenzima CYP3A4) como para la glucoproteína p-transportadora y se metaboliza ampliamente por O-desmetilación o hidroxilación. Por lo tanto, los fármacos conocidos como inductores o inhibidores de esas dos vías metabólicas son capaces de disminuir o aumentar notablemente, respectivamente, las concentraciones de sirolimus en sangre. Se cree que la actividad inmunosupresora de los metabolitos de sirolimus no supera el 10% con respecto al fármaco original.

El efecto inmunosupresor se acompaña de efectos tóxicos: hiperlipidemia (requiere monitorización de lípidos), incrementa la toxicidad de los inhibidores de la calcineurina, retrasa la cicatrización por su efecto anti-fibrótico, pueden aparecer úlceras en la boca, neumonitis intersticial, sin embargo, no es neurotóxico.

Sirolimus tiene otras ventajas sobre el resto de inmunosupresores: tiene acción antiviral, retrasando la aparición de enfermedad por CMV y tiene propiedades anti-neoplásicas.

UTILIDAD CLÍNICA

Monitorizar la concentración en sangre en pacientes trasplantados o con enfermedades autoinmunes para evitar efectos adversos y mantener un bajo riesgo de rechazo del órgano trasplantado o de exacerbación de la patología autoinmune.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

El procedimiento Architect-Abbott es una técnica de inmunoanálisis en la cual:

1. Se realiza un tratamiento manual para extraer la muestra de la sangre total mediante un reactivo de precipitación, calor y centrifugación.
2. La muestra extraída, un diluyente y las micropartículas magnéticas recubiertas de Ac anti-sirolimus se mezclan. El sirolimus presente en la muestra se une a las micropartículas magnéticas recubiertas de Ac anti-sirolimus. Posteriormente se añade sirolimus marcado con acridinio que se une a las micropartículas magnéticas recubiertas del anticuerpo anti-sirolimus que quedaron libres. Después de una incubación, se realiza un lavado y se añaden las soluciones pre-activadoras y activadoras. La resultante reacción de quimioluminiscencia se mide como unidades relativas de luz (RLUs). Existe una relación indirecta entre la cantidad de sirolimus en la muestra y la quimioluminiscencia detectada en el sistema óptico del equipo.

REQUERIMIENTO DEL PACIENTE

En el caso del sirolimus ó rapamicina se monitoriza la concentración mínima pre-dosis, es decir, la extracción de la muestra se realiza ANTES de tomar la dosis de sirolimus.

El paciente debe estar en ayunas sólo si tiene otras analíticas solicitadas.

Es importante constatar:

- Fecha y Hora de última dosis.
- Fecha y Hora de extracción.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre extraída con EDTA como anticoagulante Contenedor: tubo de tapón morado 5 ml.

VALORES DE REFERENCIA

No existe un intervalo terapéutico para sirolimus / rapamicina en sangre. Los siguientes factores contribuyen a que difieran las concentraciones óptimas.:

- ✓ El tipo de trasplante,
- ✓ el tiempo post-trasplante,
- ✓ la administración simultánea de otros inmunosupresores
- ✓ la administración concomitante de otros fármacos que puedan interferir el metabolismo del sirolimus

A cada paciente se le ajustara la dosis de acuerdo al protocolo de trasplante que su médico aplique. Es recomendable que los resultados de todos los inmunosupresores que toma un paciente figuren en un único informe

Y siempre se debe tener presente que la concentración óptima es la mínima cantidad necesaria para evitar el rechazo y los efectos adversos.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Los niveles de Tacrolimus obtenidos en el laboratorio han de ser valorados de acuerdo con el protocolo de tratamiento específico y en el contexto de la medicación concomitante.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunodeficiencias: Los resultados de la monitorización de fármacos inmunosupresores se emiten el mismo día de la extracción excepto para Everolimus, Sirolimus/rapamicina y Ácido Micofenólico que debido a que el número de muestras que se analizan semanalmente es más bajo, las muestras se analizan los Lunes y Jueves manteniéndolas almacenadas máximo 3 días a 4°C.

Si el clínico necesita saber la concentración de uno de estos fármacos el mismo día de la extracción debe llamar al laboratorio, tel :36394 para advertir y solicitar el análisis.

BIBLIOGRAFÍA

1. *R W Yatscoff et al.* Consensus Guidelines for Therapeutic Drug Monitoring of Rapamycin: Report of the Consensus Panel. *Therapeutic Drug Monitoring* 1995; 17:676-680.
2. *L Chatenoud et al.* Clinical Aspects of Immunologic Monitoring. *Transplantation Proceedings*, 1999, 31 :1812-1813.
3. *Abouelnash A. et al.* Defining the Role of Sirolimus in the Management of Graft -versus -Host Disease: From prophylaxis to Treatment. *Biol Blood marrow Transplant* 2012.

EVEROLIMUS.

INFORMACIÓN CLÍNICA:

Everolimus es un fármaco semisintético que deriva de la Rapamicina, un macrólido con propiedades inmunosupresoras producido por *Streptomyces hygroscopicus*. Everolimus tiene un grupo 2-hidroxiétilo en unión covalente introducido en la posición 40 de la molécula de la Rapamicina, obteniéndose un fármaco activo por vía oral con una potente actividad inmunosupresora y un aceptable perfil de biodisponibilidad. Se comercializa con el nombre de Certican®. Su mecanismo de acción es inhibir la proliferación de linfocitos y células de músculo liso vascular estimulada por señales de transducción derivadas de factores de crecimiento en la respuesta antigénica celular. La actividad biológica de Everolimus depende de su unión a la proteína intracelular FKBP12 que también es diana para la Rapamicina y Tacrolimus. Everolimus es metabolizado principalmente en el intestino e hígado por citocromo P450. Aproximadamente el 98% del Everolimus es excretado en la bilis en forma de metabolitos y sólo un 2% se excreta en orina. La vida media de eliminación es de 18 a 35 horas. Fármacos inductores de CYP3A e inhibidores de CYP3A modifican el metabolismo de Everolimus. Los efectos adversos descritos más relevantes son: trombocitopenia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia y alteraciones gastrointestinales. La combinación con ciclosporina reduce la eliminación de Everolimus debido a que tienen una ruta común de metabolismo.

UTILIDAD CLÍNICA

Monitorizar la concentración en sangre en pacientes trasplantados o con enfermedades autoinmunes para evitar efectos adversos y mantener un bajo riesgo de rechazo del órgano trasplantado o de exacerbación de la patología autoinmune.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

El ensayo QMS Everolimus es un inmunoensayo turbidimétrico. Se basa en la competición entre el fármaco de la muestra y el Everolimus unido a micropartículas por el anticuerpo anti-Everolimus. Las micropartículas recubiertas por el Everolimus son rápidamente aglutinadas en presencia del anticuerpo anti-Everolimus y en ausencia del fármaco en la muestra. El cambio de absorbancia se mide fotométricamente. Cuando una muestra contiene el fármaco Everolimus la reacción de aglutinación es parcialmente inhibida en función de la cantidad de fármaco en la muestra. La curva de calibración muestra un máximo de aglutinación en la concentración más baja de Everolimus y un grado de aglutinación más bajo en la mayor concentración de Everolimus añadido.

REQUERIMIENTO DEL PACIENTE

Everolimus se monitoriza la concentración mínima pre-dosis, es decir, la extracción de la muestra se realiza ANTES de tomar la dosis de Everolimus = Certican®

El paciente debe estar en ayunas sólo si tiene otras analíticas solicitadas.

Es importante constatar:

- Fecha y Hora de última dosis.
- Fecha y Hora de extracción.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre extraída con EDTA como anticoagulante Contenedor: tubo de tapón morado 5 ml.

VALORES DE REFERENCIA

No existe un intervalo terapéutico para Everolimus en sangre. Los siguientes factores:

✓El tipo de trasplante,

- ✓el tiempo post-trasplante,
 - ✓la administración simultánea de otros inmunosupresores
 - ✓la administración concomitante de otros fármacos que puedan interferir el metabolismo del sirolimus
- contribuyen a que difieran las concentraciones óptimas.

A cada paciente se le ajustara la dosis de acuerdo al protocolo de trasplante que su médico aplique. Es recomendable que los resultados de todos los inmunosupresores que toma un paciente figuren en un único informe

Y siempre se debe tener presente que la concentración óptima es la mínima cantidad necesaria para evitar el rechazo y los efectos adversos.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Los niveles de Everolimus obtenidos en el laboratorio han de ser valorados de acuerdo con el protocolo de tratamiento específico y en el contexto de la medicación concomitante.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunodeficiencias: Los resultados de la monitorización de fármacos inmunosupresores se emiten el mismo día de la extracción excepto para Everolimus, Sirolimus/rapamicina y Ácido Micofenólico que debido a que el número de muestras que se analizan semanalmente es más bajo, las muestras se analizan los Lunes y Jueves manteniéndolas almacenadas máximo 3 días a 4°C.

Si el clínico necesita saber la concentración de uno de estos fármacos el mismo día de la extracción debe llamar al laboratorio, tel :36394 para advertir y solicitar el análisis.

BIBLIOGRAFÍA

1. G.I. Kirchner, I. Meier-Wiedenbach and M. P Manns. Clinical Pharmacokinetics of Everolimus. Clin Pharmacokinet 2004; 43 (2) ; 83-95.
2. John M. Kovarik. Everolimus. Drugs of Today 2004; 40 (2): 101-109.
3. Björn Nashan. Review of the proliferation inhibitor everolimus. Expert Opinion on Investigational Drugs. 2002.11 (12); 1845-1857

DETERMINACIÓN DE POBLACIONES LINFOCITARIAS EN SANGRE PERIFERICA.

INFORMACIÓN Y UTILIDAD CLÍNICA

1. Cuantificación de subpoblaciones de linfocitos T para monitorización en pacientes con infección por HIV.
2. Cuantificación de subpoblaciones linfocitarias: Linfocitos T, B y NK y subpoblaciones T CD4 y T CD8 en:
 - a. Pacientes con sospecha de inmunodeficiencia.
 - b. Monitorización de tratamientos con anticuerpos monoclonales: Rituximab, Natalizumab, Fingolimod, etc y tratamientos con suero anti- linfocitos T.
 - c. Monitorización de la restauración inmunológica post- trasplante de progenitores hematopoyéticos o tras tratamiento con quimioterapia.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

Los linfocitos son células que se reconocen fácilmente por su morfología, pero para identificar subpoblaciones linfocitarias funcionalmente diferentes es necesario utilizar anticuerpos conjugados con fluorocromos que reconocen moléculas de superficie, citoplásmicas ó nucleares y un citómetro de flujo que permite evaluar un gran número de células en un periodo de tiempo de segundos ó minutos.

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

No existen

REQUISITOS DE LA MUESTRA

Sangre extraída con EDTA como anticoagulante Contenedor: tubo de tapón morado 5 ml. La muestra debe analizarse en las primeras 24 horas post-extracción. Durante este tiempo mantener a temperatura ambiente.

VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia para las poblaciones linfocitarias son dependientes de la edad.

Sangre periférica	Linfocitos T		Linfocitos T CD4		Linfocitos T CD8		Ratio	Linfocitos B		Linfocitos NK	
	%	C/ μ L	%	C/ μ L	%	C/ μ L		%	C/ μ L	%	C/ μ L
Adultos	55-83	700-2100	28-57	300-1400	10-39	200-900	1-3,6	6-19	100-500	7-31	90-600
10-16 años	52-78	800-3500	25-48	400-2100	9-35	200-1200	0,9-3,4	8-24	200-600	6-27	70-1200
5-10 años	55-78	700-4200	27-53	300-2000	19-34	300-1800	0,9-2,6	10-31	200-1600	4-26	90-900
2-5 años	43-76	900-4500	27-53	500-2400	14-33	300-1600	0,9-2,9	14-44	200-2100	4-23	100-1000
15-24 meses	39-73	1400-8000	25-50	900-5500	11-32	400-2300	0,9-3,7	17-41	600-3100	3-16	100-1400
9-15 meses	54-76	1600-6700	31-54	1000-4600	12-28	400-2100	1,3-3,9	15-39	600-2700	3-17	200-1200
5-9 meses	50-77	2400-6900	33-58	1400-5100	13-26	600-2200	1,6-3,8	13-35	700-2500	2-13	100-1000

2-5 meses	48-75	2300-6500	33-58	1500-5000	11-25	500-1600	1,7-3,9	14-39	600-3000	2-14	100-1300
1 semana-2 meses	60-85	2300-7000	41-68	1700-5300	9-23	400-1700	1,3-6,3	4-26	600-1900	3-23	200-1400
Neonatal	28-76	600-5000	17-52	400-3500	10-41	200-1900	1-2,6	5-22	40-1100	6-58	100-1900
Sangre de cordón	49-62	2400-3700	28-42	1500-2400	26-33	1200-2000	0,8-1,8	14-23	700-1500	14-30	800-1800

Valores de referencia tomados de J. Pediatr 1997; 130:388-93 (*W Marieke Comans-Bitter et al*)

VALORES CRÍTICOS

Una disminución severa de cualquiera de las subpoblaciones requiere ser valorada por el facultativo especialista de Inmunología ya que puede indicar la existencia de una inmunodeficiencia. El diagnóstico debe establecerse después de descartar causas secundarias y tratamientos biológicos. Es importante además valorar adecuadamente la historia clínica.

En los pacientes con infección por HIV o inmunodeficiencia secundaria a malignidad hematológica una cifra de 200 linfocitos TCD4+/μL es mandatorio de profilaxis de infecciones oportunistas.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Cifras disminuidas ó ausentes pueden marcar una inmunodeficiencia primaria después de descartar posibles causas secundarias. El facultativo inmunólogo realizará la ampliación del estudio fenotípico y/o funcional de subpoblaciones linfocitarias según la inmunodeficiencia que se sospeche.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunodeficiencias:máximo 3 días, salvo necesidad de ampliación del estudio fenotípico de subpoblaciones linfocitarias ante sospecha de inmunodeficiencia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lymphocyte populations as a function of age. *Hannet I et al* . Immunology Today 1992
2. Immunophenotyping of blood lymphocytes in childhood. Reference values for lymphocyte subpopulations. *W. Marieke Comans-Bitter et al* . J Pediatr. 1997 ; 130 : 388-93

DETERMINACIÓN DE POBLACIONES LEUCOCITARIAS Y SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS EN LAVADO BRONCOALVEOLAR Y EN EL ESPUTO INDUCIDO.

INFORMACIÓN Y UTILIDAD CLÍNICA.

La cuantificación de poblaciones leucocitarias en el lavado broncoalveolar (BAL) ayuda a diagnosticar y clasificar numerosos cuadros respiratorios que radiológicamente no tienen un patrón específico. La presencia de linfocitos >10% es patológica y precisa analizar las subpoblaciones linfocitarias que identificará la subpoblación linfocitaria mayoritaria presente.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

Los linfocitos son células que se reconocen fácilmente por su morfología, pero para identificar subpoblaciones linfocitarias funcionalmente diferentes es necesario utilizar anticuerpos conjugados con fluorocromos que reconocen moléculas de superficie, citoplásmicas o nucleares y un citómetro de flujo que permite evaluar un gran número de células en un periodo de tiempo de segundos o minutos.

REQUERIMIENTOS DEL PACIENTE

Los específicos de la realización de un BAL.

REQUISITOS DE LA MUESTRA

La cuantificación de subpoblaciones linfocitarias por citometría de flujo requiere líquido de lavado broncoalveolar recién extraído. La tinción y adquisición de la muestra en el citómetro de flujo debe realizarse inmediatamente post obtención de la muestra. Las Unidades de Broncoscopia deben avisar al laboratorio de Inmunología con anticipación al día de realización de la prueba. La muestra debe recepcionarse con tiempo suficiente para realizar el análisis el mismo día de la broncoscopia. La muestra de BAL debe acompañarse de una muestra de sangre periférica para comparar las subpoblaciones leucocitarias por si el BAL fuera muy hemorrágico.

VALORES DE REFERENCIA

No hemos encontrado en la literatura valores de referencia para subpoblaciones linfocitarias identificando los linfocitos con CD45/SSC. Existen descripciones antiguas identificando linfocitos por su tamaño y complejidad, pero este criterio es obsoleto y equivoco.

Se valora la identificación de la subpoblación de linfocitos predominante.

Respecto a las poblaciones leucocitarias el Am Rev Respir Dis 1990; 142: 642-647 describe los siguientes valores de referencia de leucocitos hechos en 46 voluntarios sanos:

Valores de Referencia en BAL tomados del Am Rev Respir Dis 1990; 142:642-647			
Macrófagos Alveolares	Linfocitos	Neutrófilos	Eosinófilos
88.1-90.5	7.8-10.0	1.0-1.6	0.4-0.6

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:

Tanto en esputo inducido como en BAL se valora la identificación de la subpoblación linfocitaria mayoritaria presente en la muestra. Así como el recuento diferencial de leucocitos.

TIEMPO DE RESPUESTA:

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunodeficiencias:máximo 3 días.

BIBLIOGRAFÍA:

1. *Allen JA et al.* Diagnostic significance of increased bronchoalveolar lavage fluid eosinophils. *Am Rev Respir Dis*, 1990; 142: 642-647.
2. *Tricas L et al.* Flow cytometry counting of bronchoalveolar lavage leukocytes with a new profile of monoclonal antibodies. *Clinical Cytometry* 2012; 82B :61-66
3. Interstitial lung disease guideline: the British Thoracic Society in collaboration with the Thoracic Society of Australia and New Zealand and the Irish Thoracic Society. *Thorax* 2008; 63; v1-v58. doi:10.1136/thx.2008.101691

SCREENING DE INMUNODEFICIENCIA PRIMARIA

INFORMACIÓN CLÍNICA

El sistema inmunitario está formado por diferentes tipos de células y proteínas. Cada una tiene una función especial en el reconocimiento de sustancias extrañas (bacterias, virus, partículas orgánicas e inorgánicas, órganos trasplantados, etc.). Las inmunodeficiencias primarias suelen ser el resultado de la alteración de alguno de los componentes del sistema inmune.

La última clasificación de inmunodeficiencias primarias hecha por expertos inmunólogos del Unión Intencional de Sociedades de Inmunología (IUIS) es la del 2019 (J Clin Immunol. 2020 Jan;40(1):66-81).

Se agrupan en:

- Inmunodeficiencias Combinadas Severas.
- Síndromes bien definidos con inmunodeficiencia
- Inmunodeficiencias por defecto predominante de anticuerpos.
- Inmunodeficiencias por defecto del número ó función ó ambos del sistema fagocítico.
- Inmunodeficiencias por disregulación del sistema inmune.
- Inmunodeficiencias por defecto en la inmunidad innata.
- Enfermedades autoinflamatorias.
- Inmunodeficiencias del complemento
- Inmunodeficiencias por autoanticuerpos frente a citoquinas.
- Otras inmunodeficiencias no clasificadas.

Los signos clínicos clásicos de las inmunodeficiencias primarias son.

- Infecciones bacterianas recurrentes
- Retraso inexplicable del crecimiento en niños
- Infecciones que requieren tratamiento prolongado ó uso intravenoso de antibióticos
- Infecciones recurrentes en más de un punto del cuerpo.
- Predisposición a determinados gérmenes p.e. *Neisseria* señala defectos en el complemento, EBV puede apuntar un síndrome linfoproliferativo ligado al cromosoma X (XLP), etc

Ante sospecha de inmunodeficiencia, se solicitará el Screening de inmunodeficiencia primaria que incluye una valoración de primer nivel (cuantificación de inmunoglobulinas y subpoblaciones linfocitarias). El facultativo inmunólogo realizará la ampliación del estudio según los resultados de las pruebas de primer nivel y la inmunodeficiencia que se sospeche. Las pruebas de segundo y tercer nivel que se realizarán pueden incluir las siguientes determinaciones:

- la actividad funcional de los anticuerpos,
- funcionamiento del sistema del complemento y
- actividad oxidativa de los neutrófilos de sangre periférica.
- Degranulación de las células NK que valora parcialmente su actividad citotóxica (síndrome hemofagocítico).
- Proliferación de linfocitos frente a mitógenos y antígenos (en casos con disminución importante de linfocitos T).
- Ensayos de citotoxicidad de linfocitos NK.
- Cuantificación *in vitro* de citoquinas inflamatorias post- unión a su ligando de los Toll like receptor.
- Cuantificación de IFN-gamma e IL12 en infecciones por micobacterias atípicas.
- Determinación de subpoblaciones linfocitarias T naïve y de memoria, subpoblaciones de linfocitos T CD4+ (Th1, th2, Th17, T reguladoras), células T recién emigradas del timo.
- Determinación de subpoblaciones linfocitarias B naïve y de memoria.

UTILIDAD CLÍNICA

Diagnóstico de inmunodeficiencias primarias.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

Para analizar la actividad funcional de los anticuerpos se valora el incremento de anticuerpos post-vacunación con diferentes antígenos mediante ELISA.

El funcionamiento del sistema del complemento se analiza mediante un ELISA en el que una placa recubierta con activadores específicos para cada una de las vías de activación del complemento / clásica, alternativa y vía de las lectinas) se incuba con el suero. Durante el periodo de incubación se activa el complemento y se genera el complejo C5b-9 que es detectado mediante un anticuerpo conjugado con fosfatasa alcalina.

La actividad oxidativa del neutrófilo se analiza por citometría mediante el compuesto de la dihydrorhodamina 123 que entra en los neutrófilos y al activar el sistema NADPH oxidasa añadiendo PMA a la muestra de sangre se genera H₂O₂ que oxida la dihydrorhodamina y emite fluorescencia.

REQUERIMIENTO DEL PACIENTE

- Las pruebas funcionales se realizan con sangre recién extraída (No se puede almacenar la muestra) por tanto es absolutamente necesario CITAR AL PACIENTE.
- Precisan del análisis simultáneo de una sangre control de un donante sano.
- El paciente debe estar en ayunas sólo si tiene otras pruebas analíticas solicitadas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados deben ser interpretados por el Facultativo Inmunólogo, que realizará las determinaciones necesarias según los resultados de las pruebas de primer nivel y la inmunodeficiencia que se sospeche.

TIEMPO DE RESPUESTA

Servicio de Inmunología.

Sección de Inmunodeficiencias: Entre 3 y 6 semanas dependiendo de la complejidad de las determinaciones requeridas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Clasificación de Inmunodeficiencias, 2019 (J Clin Immunol. 2020 Jan; 40(1):66-81).
2. Mary Ellen Conley et al. Diagnostic criteria for Primary Immunodeficiency. Clinical Immunology 1999; 93: 190-197
3. Jean -laurent Casanova et al. Primary Immunodeficiencies: A field in its Infancy. Science 2007; 317:617-619
4. Aziz Bousfiha et al. Primary Immunodeficiencies of protective immunity to primary infections. Clinical Immunology 2010; 135: 204-209

ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

Información clínica

Los anticuerpos antinucleares (ANA) son autoanticuerpos (autoAc), preferentemente de isotipo IgG, dirigidos contra antígenos presentes en el núcleo. Los ANA se pueden detectar en el 10-15% de las personas sanas. Esta prevalencia es mayor en mujeres y aumenta con la edad llegando al 20-30% en individuos mayores de 65 años. En enfermedades autoinmunes sistémicas, su presencia es elevada reflejando el funcionamiento anómalo del sistema inmune que tiene lugar en estas patologías. Los ANA se presentan en el 95% de pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES), en el 60-95% de pacientes con síndrome de Sjögren, en el 95-100% de pacientes con enfermedad mixta del tejido conectivo (EMTC), en el 60-90% de pacientes con esclerosis sistémica limitada/difusa, en el 50-75% de pacientes con dermatomiositis/polimiositis, en el 40-60% de pacientes con artritis reumatoide y en el 25-35% de pacientes con vasculitis. Algunas enfermedades autoinmunes órgano-específicas también presentan ANA con una prevalencia elevada. En colangitis biliar primaria y hepatitis autoinmune, se detectan respectivamente en el 50% y 60% de los pacientes. Además, se pueden encontrar ANA en otras patologías como infecciones virales y bacterianas y neoplasias.

Utilidad clínica

Diagnóstico y monitorización de enfermedades autoinmunes sistémicas y hepatopatías autoinmunes.

Descripción del método

Las recomendaciones internacionales publicadas sobre la determinación de ANA (Agmon-Levi et al) indican que la inmunofluorescencia indirecta (IFI) es el método de referencia. El resultado final se obtiene por observación al microscopio de la presencia o ausencia de patrones de fluorescencia característicos según las estructuras nucleares hacia las que se dirigen los autoAc. Es una técnica semi-cuantitativa en la que la titulación de los ANA se realiza mediante diluciones seriadas.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Líquidos pleural, sinovial y pericárdico: Tubo de plástico de tapón verde, con heparina sódica y sin gelosa

Líquido cefalorraquídeo: Tubo de plástico tapón blanco, sin aditivos y sin gelosa.

Valores de referencia

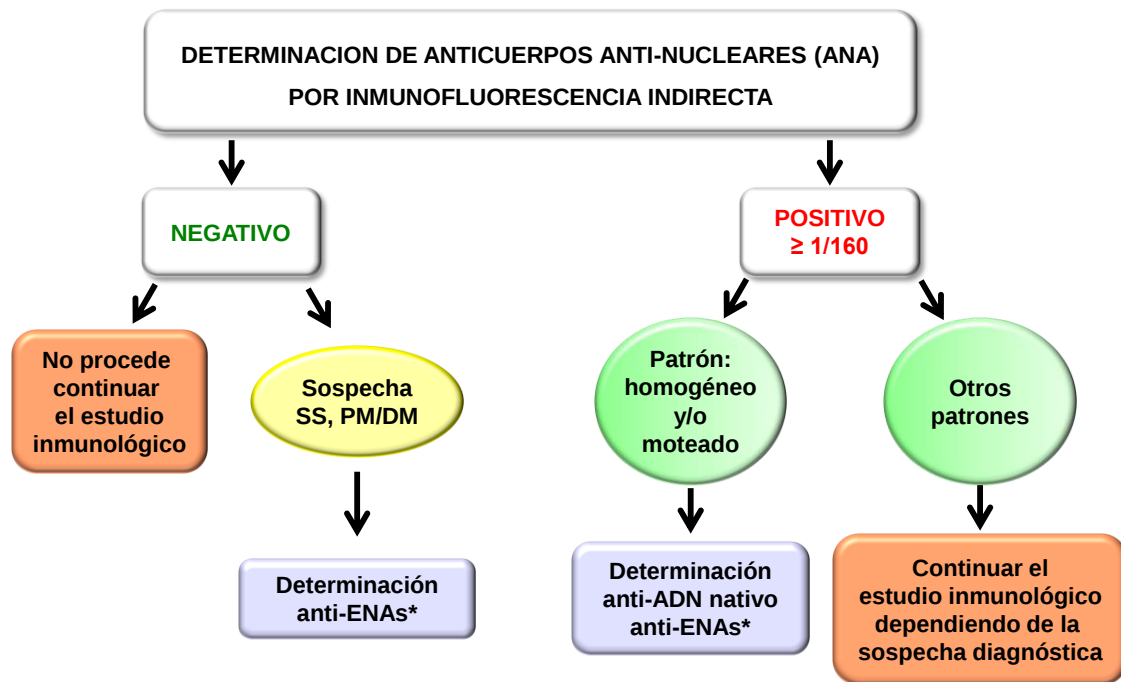
Se consideran niveles anormales de ANA los títulos iguales o superiores a 1/160.

Interpretación de los resultados

Debido a la falta de especificidad de los ANA, su valor predictivo positivo es bajo, debiéndose siempre valorar en relación con las manifestaciones clínicas. Por otra parte, la ausencia de ANA prácticamente descarta el diagnóstico de LES y EMTC debido a su elevado valor predictivo negativo en estas enfermedades.

Algoritmo diagnóstico

Es importante señalar que la IFI no permite determinar la especificidad antigénica concreta de los ANA siendo necesario en casos de positividad determinar la reactividad específica de estos autoAc frente a autoantígenos nucleares aislados mediante técnicas complementarias.



*La determinación de anti-ENAs incluye: anti-SS-A/Ro60, SS-A/Ro52, RNP, Sm, Scl-70 y Jo-1
 SS: síndrome de Sjögren; PM/DM: polimiositis/dermatomiositis

Tiempo de respuesta

El tiempo de respuesta depende del resultado:

- Negativos: 5 días
- Positivos: 10 días

Bibliografía

- Fritzler MJ. The antinuclear antibody test: last o lastins gasp? Arthritis Rheum 2011;63:19-22.
- Mariz HA, Sato EI, Barbosa SH, Rodriguez SH, Dellavance A, Andrade LEC. Pattern of antinuclear antibody –Hep-2 test is a critical parameter for discriminating antinuclear antibody-positive healthy individuals and patients with autoimmune rheumatic diseases. Arthritis Rheum 2011;63:191-200.
- Bogdanos DP, Invernizzi P, Mackay IR, Vergani D. Autoimmune liver serology: Current diagnosis and clinical challenges. World J Gastroenterol 2008;14:3374-87.
- Agmon-Levi N, Damoiseaux J, Kallenberg C, Sack U, Witte T, Herold M et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. Ann Rheum Dis 2014;73:17-23.

ANTICUERPOS ANTI-CENTROMERO

Información clínica

Los anticuerpos anti-centrómero son Ac anti-nucleares (ANA) altamente asociados con esclerosis sistémica (ES) (35%) fundamentalmente con su forma limitada (50%). Son altamente específicos de ES detectándose infrecuentemente en otras enfermedades autoinmunes sistémicas. Su asociación con otros autoAc marcadores de ES, por ej. anti-Scl-70 (topoisomerasa), es muy rara.

Utilidad clínica

Diagnóstico de ES.

Descripción del método

Inmunofluorescencia indirecta (IFI) en la que el resultado final se obtiene por observación al microscopio de la presencia o ausencia del patrón de fluorescencia característico de los Ac anti-centrómero. Es una técnica semi-cuantitativa en la que la titulación se realiza mediante diluciones seriadas.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Se consideran niveles positivos de Ac anti-centrómero los títulos iguales a superiores a 1/160.

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo apoya fuertemente del diagnóstico de ES y, en estos casos, los títulos de los Ac suelen ser elevados.

Los Ac anti-centrómero se informan como ANA con el patrón correspondiente

Tiempo de respuesta

10 días

Bibliografía

Hamaguchi Y. Autoantibody profiles in systemic sclerosis: Predictive value for clinical evaluation and prognosis. J Dermatol 2010;37:42-53.

Avouac J, Fransen J, Walker UA, Riccieri V, Smith V, Muller C et al. EUSTAR Group. Preliminary criteria for the very early diagnosis of systemic sclerosis: results of a Delphi Consensus Study from EULAR Scleroderma Trials and Research Group. Ann Rheum Dis 2011;70:476-81.

ANTICUERPOS ANTI-DNA

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-DNA nativo (doble cadena, dsDNA) son anticuerpos anti-nucleares (ANA) altamente específicos de lupus eritematoso sistémico (LES) y se asocian con distintas manifestaciones clínicas de la enfermedad, especialmente, con la nefritis lúpica. Además, se ha comprobado que sus niveles se correlacionan con la actividad de la enfermedad. Estos autoAc son de isotipo IgG y de alta afinidad.

Utilidad clínica

Diagnóstico y monitorización del LES.

Descripción del método

Inmunoensayo de partículas direccionable por láser (*Addressable laser bead immunoassay, ALBIA*) utilizando como sustrato antigénico DNA nativo. El resultado final se cuantifica por detección de fluorescencia emitida. Para evaluar los resultados de la prueba, la respuesta de las muestras de los pacientes se compara directamente con la respuesta de los calibradores. Los resultados se expresan en unidades internacionales (UI)/mL.

La determinación de Ac anti-DNA nativo puede dar lugar a resultados falsos positivos que según las recomendaciones internacionales establecidas al respecto deben ser confirmados por técnicas complementarias de mayor especificidad. En estos casos, se confirma el resultado mediante Inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre *Crithidia luciliae* que permite detectar Ac anti-DNA nativo de alta afinidad que son altamente específicos de LES.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/Suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Positivos $\geq$ 30 UI/mL

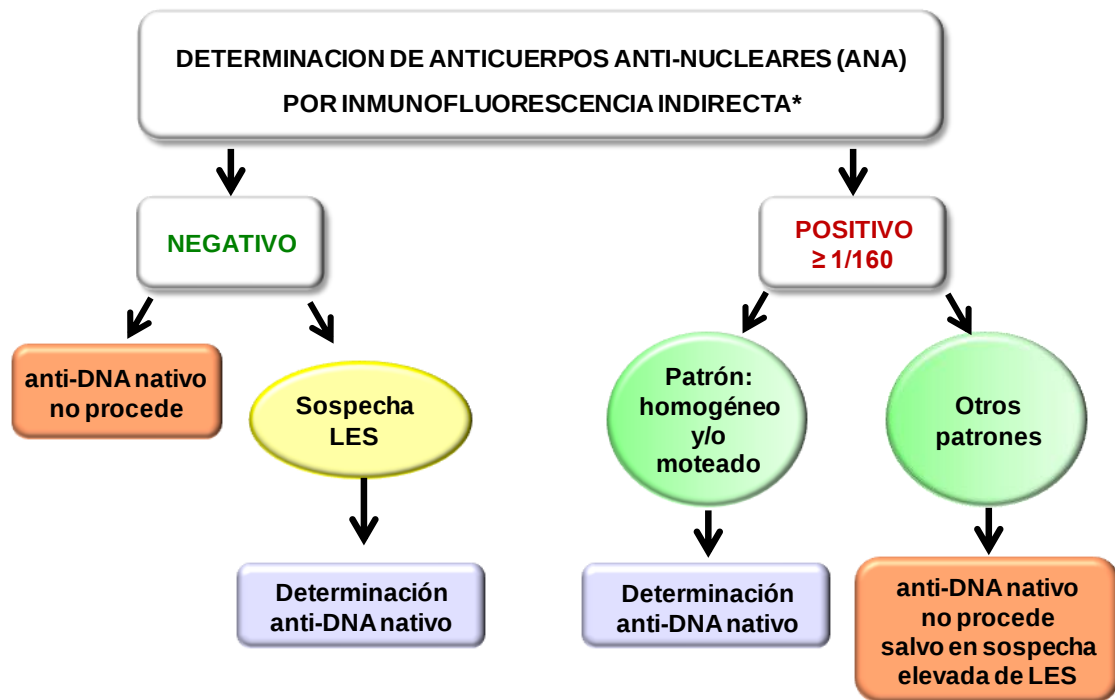
Interpretación de los resultados

Debido a que la técnica utilizada (CLIA) presenta un bajo porcentaje de falsos positivos, los resultados positivos obtenidos por primera vez se confirman mediante IFI sobre *Crithidia luciliae*. Un resultado positivo por ambas técnicas apoya fuertemente el diagnóstico de LES. Un resultado positivo por CLIA sin confirmar por IFI debe siempre valorarse en relación con las manifestaciones clínicas.

Algoritmo diagnóstico

El algoritmo diagnóstico para la determinación de anti-DNA nativo es diferente en función de si la finalidad es diagnóstico o seguimiento de LES.

Diagnóstico de LES: en primer lugar, se realiza la determinación de ANA por inmunofluorescencia



* En seguimiento de LES, no es necesaria la determinación de ANA realizándose directamente la determinación de anti-DNA nativo.
 LES: lupus eritematoso sistémico

Seguimiento de LES: bajo solicitud del clínico se determinan directamente los anti-ADN nativo, sin necesidad de realizar los ANA.

Tiempo de respuesta

- En caso de ANA positivos (según algoritmo), 10 días
- Seguimiento LES: 5 días

Bibliografía

Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997;40:1725

Bagavant H, Fu SM. Pathogenesis of kidney disease in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol* 2009;21:489-94.

Agmon-Levi N, Damoiseaux J, Kallenberg C, Sack U, Witte T, Herold M et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis* 2014;73:17-23.

ANTICUERPOS ANTI-ENA

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-ENA (extractable nuclear antigens) se presentan en distintas enfermedades autoinmunes, principalmente sistémicas. Los Ac que se detectan de rutina son los anti-SS-A/Ro60, SS-A/Ro52, RNP, Sm, Scl-70 y Jo-1. A continuación, se indican las principales asociaciones clínicas de cada uno de ellos:

- anti-SS-A/Ro60: asociación principalmente con lupus eritematoso sistémico (LES) y con síndrome de Sjögren (SS). Considerados dentro del complejo anti-SS-A/Ro, junto con los anti-SS-A/Ro52, forman parte de los criterios diagnósticos del SS. Se presenta también en otras enfermedades autoinmunes sistémicas y menos frecuentemente en enfermedades órgano específicas.

- anti-SS-A/Ro52: asociación principalmente con SS y frecuencia elevada miopatías inflamatorias idiopáticas (MII). Considerados dentro del complejo anti-SS-A/Ro, junto con los anti-SS-A/Ro60, forman parte de los criterios diagnósticos del SS. Se presenta también en otras enfermedades autoinmunes sistémicas y órgano-específicas. También se ha descrito su presencia en patologías no autoinmunes como infecciones y neoplasias.

- anti-RNP: criterio de la enfermedad mixta del tejido conectivo (EMTC). También se presenta menos frecuentemente en otras enfermedades autoinmunes, principalmente sistémicas.

- anti-Sm: criterio diagnóstico y altamente específico del LES.

- anti-Scl-70: asociación con esclerosis sistémica (ES), principalmente con su forma difusa.

- anti-Jo-1: asociación con MII principalmente con el síndrome anti-sintetasa

Utilidad clínica

Diagnóstico de enfermedades autoinmunes sistémicas.

Descripción del método

Inicialmente, se realiza una prueba de cribado mediante iInmunoensayo de partículas direccionable por láser (*Addressable laser bead immunoassay, ALBIA*) en la que la presencia de anti-ENA frente a una mezcla de los antígenos SS-A/Ro60, SS-A/Ro52, RNP, Sm, Scl-70 y Jo-1 se detecta por cuantificación de la fluorescencia emitida. Para evaluar los resultados de la prueba, la respuesta de las muestras de los pacientes se compara directamente con la respuesta de los calibradores.

En caso de resultado positivo por quimioluminiscencia, se identifica la reactividad específica para cada anti-ENA mediante inmunoblot. En este caso, los antígenos se encuentran separados en la tira y la señal de reacción que permite la identificación individual de los autoAc también se obtiene mediante reacción enzimática. El resultado final se cuantifica mediante escaneo de la intensidad de reacción correspondiente a cada antígeno.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Interpretación de los resultados

Los resultados se informan como:

- Negativos: anti-SS-A, SS-B, RNP, Sm, Scl-70 y Jo-1.

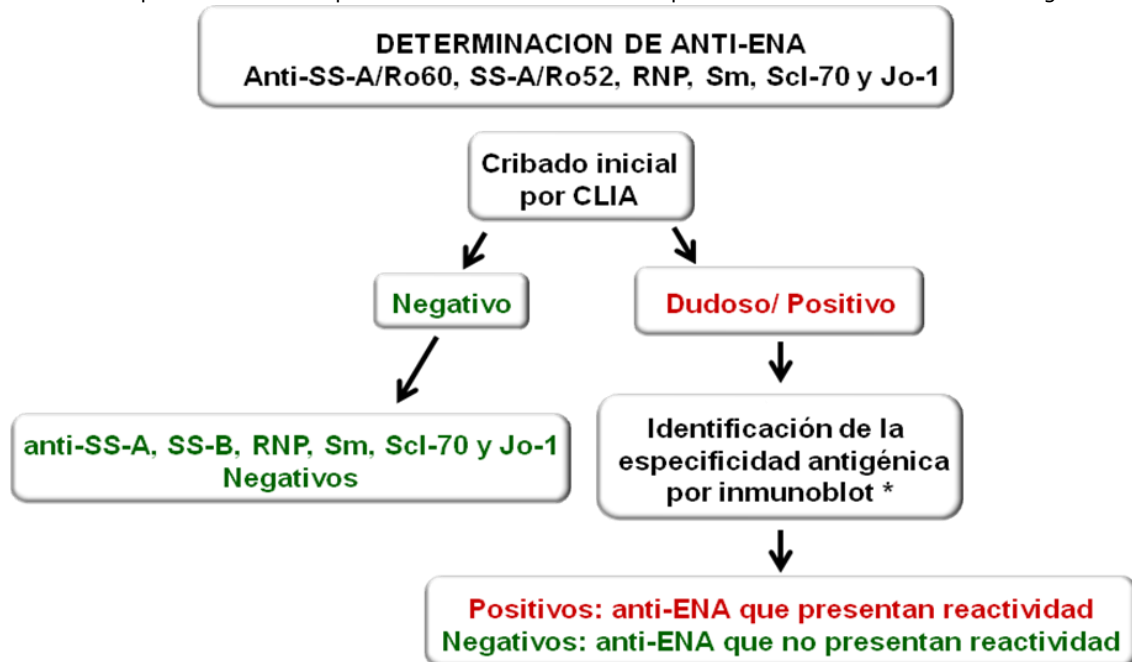
- Positivos: para el correspondiente anti-ENA identificado. También se indican los anti-ENA que son negativos.

Un resultado negativo no excluye el diagnóstico de ninguna enfermedad autoinmune sistémica. Los Ac anti-SS-A/Ro (SS-A/Ro60 y/o SS-A/Ro52) forman parte de los criterios objetivos del SS pero no son específicos ya que se presentan en otras patologías autoinmunes, preferentemente LES. Los Ac anti-RNP son criterio diagnóstico de la EMTC aunque no específicos. Los Ac anti-Sm son específicos y criterio diagnóstico del LES. Los Ac anti-Scl-70 y anti-Jo-1 son específicos de, respectivamente, ES y MII.

Algoritmo diagnóstico

La realización de esta prueba dependerá del resultado de los Ac anti-nucleares (ANA) y de la información clínica aportada siguiendo las recomendaciones internacionales sobre la determinación de ANA publicadas al respecto (Agmon-Levi et al.) En resumen, se determinarán los anti-ENA cuando:

- los ANA tengan un título $\geq 1/160$ y un patrón homogéneo y/o moteado
- los ANA sean negativos pero haya una sospecha elevada de SS o miopatía inflamatoria idiopática (MII).
- los ANA presenten otros patrones de fluorescencia dependiendo de la orientación diagnóstica.



* En el caso de pacientes anteriormente anti-ENA positivos, no se realiza la determinación de la especificidad antigénica hasta que transcurra, al menos, un año desde la última identificación CLIA: quimioluminiscencia

Tiempo de respuesta

15 días

Bibliografía

Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, carsons SE et al. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European consensus group. Ann Rheum Dis 2002;61:554-8.

Peene I, Meheus L, Veys EM, De keyser F. Diagnostic associations in a large and consecutively identified population positive for anti-SS-A and/or anti-SSB: the range of associated diseases differs according to the detailed serotype. Ann Rheum Dis 2002;61:1090-4.

Fritsch C, Hoebeke J, Dali H, Ricchiuti V, Isenberg DA, Meyer O et al. 52-kDa Ro/SSA epitopes preferentially recognized by antibodies from mothers of children with neonatal lupus and congenital heart block. Arthritis Res Ther 2006;8:R4.

Venables PJ. Mixed connective tissue disease. Lupus 2006;15:132-7.

Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 1997;40:1725

Ching KH, Burbelo PD, Tipton C, Wei C, Petri M, Snaz I et al. Two major autoantibody clusters in systemic lupus erythematosus. PLoS One 2012;7:e32001.

Hamaguchi Y. Autoantibody profiles in systemic sclerosis: Predictive value for clinical evaluation and prognosis. J Dermatol 2010;37:42-53.

Gunawardena H, Betteridge ZE, McHugh NJ. Myositis-specific autoantibodies: their clinical and pathogenic significance in disease expression. *Rheumatology* 2009;48:607-12.

Agmon-Levi N, Damoiseaux J, Kallenberg C, Sack U, Witte T, Herold M et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis* 201

ANTICUERPOS ANTI-SS-A/Ro60

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-SSA/Ro se encuentran entre los anticuerpos anti-ENA (extractable nuclear antigen) más frecuentemente detectados en la rutina diagnóstica. Son específicos de dos antígenos SSA/Ro de peso molecular 60 kDa y 52 kDa con diferentes funciones y codificados por distintos genes. Ambas especificidades de Ac se han considerado históricamente como un sistema antigénico uniforme debido a que frecuentemente se presentan de manera simultánea en distintas patologías autoinmunes, preferentemente lupus eritematoso sistémico (LES) y síndrome de Sjögren (SS). Sin embargo, actualmente, existe una amplia evidencia de que los antígenos SS-A/Ro60 y SS-A/Ro52 no forman parte de un mismo complejo macromolecular y que están codificados por distintos genes. Además, desde los primeros estudios que han analizado por separado los Ac anti-SSA/Ro60 y anti-SSA/Ro52, también se ha observado que ambas especificidades tienen algunas asociaciones clínicas diferentes:

- Tanto los anti-SS-A/Ro60 como los anti-SS-A/Ro52, considerados dentro del sistema SS-A/Ro, forman parte de los criterios diagnósticos del SS.
- Los Ac anti-SS-A/Ro60 se presentan también en otras enfermedades autoinmunes sistémicas, preferentemente, LES en la que están asociados con fotosensibilidad.
- En el lupus eritematoso subagudo (LECS), tanto los Ac anti-SS-A/Ro60 como los anti-SS-A/Ro52 se detectan en un elevado porcentaje de pacientes.
- La asociación de los Ac anti-SS-A/Ro60 con enfermedades autoinmunes organoespecíficas y con patologías no autoinmunes es menor que la de los Ac anti-SS-A/Ro52.
- Los dos Ac anti-SS-A/Ro se presentan en hasta el 90% de casos de lupus eritematoso neonatal (NLE)

Resto de requisitos/información

Ver Anticuerpos anti-ENA

Interpretación de los resultados

Los Ac anti-SS-A/Ro60, considerados dentro del sistema SS-A/Ro junto con los anti-SS-A/Ro52, son criterio diagnóstico de SS. En el contexto clínico adecuado, la presencia aislada de anti-SS-A/Ro60 (sin anti-SS-A/Ro52) es sugerente de LES.

Bibliografía

Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, carsons SE et al. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European consensus group. Ann Rheum Dis 2002;61:554-8.

Schulte-Pelkum J, Fritzler M, Mahler M. Latest update on the Ro/SS-A autoantibody system. Autoimmun Rev 2009;8:632-7.

López-Longo FJ, Rodríguez-Mahou M, Escalona M, Pérez T, Monteagudo I, Sánchez-Atrio et al. Heterogeneity of the anti-Ro(SSA) response in rheumatic diseases. J Rheumatol 1994;21:1450-6.

Peene I, Meheus L, Veys EM, De keyser F. Diagnostic associations in a large and consecutively identified population positive for anti-SS-A and/or anti-SSB: the range of associated diseases differs according to the detailed serotype. Ann Rheum Dis 2002;61:1090-4.

Agmon-Levi N, Damoiseaux J, Kallenberg C, Sack U, Witte T, Herold M et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. Ann Rheum Dis 2014;73:17-23.

ANTICUERPOS ANTI-SS-A/Ro52

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-SSA/Ro se encuentran entre los anticuerpos anti-ENA (extractable nuclear antigen) más frecuentemente detectados en la rutina diagnóstica. Son específicos de dos antígenos SSA/Ro de peso molecular 60 kDa y 52 kDa con diferentes funciones y codificados por distintos genes. Ambas especificidades de Ac se han considerado históricamente como un sistema antigénico uniforme debido a que frecuentemente se presentan de manera simultánea en distintas patologías autoinmunes, preferentemente lupus eritematoso sistémico (LES) y síndrome de Sjögren (SS). Sin embargo, actualmente, existe una amplia evidencia de que los antígenos SS-A/Ro60 y SS-A/Ro52 no forman parte de un mismo complejo macromolecular y que están codificados por distintos genes. Al contrario que los anti-SS-A/Ro60, los anti-SS-A/Ro52 no son realmente Ac anti-nucleares (ANA) ya que la ubicación del antígeno es citoplasmática por lo que pueden aparecer en ausencia de ANA. Además, desde los primeros estudios que analizaron por separado los Ac anti-SSA/Ro60 y anti-SSA/Ro52, también se ha observado que ambas especificidades tenían algunas asociaciones clínicas diferentes:

- Tanto los anti-SS-A/Ro60 como los anti-SS-A/Ro52, considerados dentro del sistema SS-A/Ro, forman parte de los criterios diagnósticos del SS.
- Los Ac anti-SS-A/Ro52 se presentan también en otras enfermedades autoinmunes sistémicas. Como los anti-SS-A/Ro60, su presencia en el LES está asociada con fotosensibilidad.
- Respecto a la presencia aislada de anti-SS-A/Ro52 (sin SS-A/Ro60), las patologías con mayor prevalencia de estos autoAc son el SS, las miopatías inflamatorias idiopáticas (MII) y, en menor medida, esclerosis sistémica (ES). Sin embargo, es muy baja en el LES.
- En el lupus eritematoso subagudo (LECS), tanto los Ac anti-SS-A/Ro52 como los anti-SS-A/Ro60 se detectan en un elevado porcentaje de pacientes.
- La asociación de los anti-SS-A/Ro52 con enfermedades autoinmunes organoespecíficas y con patologías no autoinmunes es mayor que la de los Ac anti-SS-A/Ro60.
- Los dos Ac anti-SS-A/Ro se presentan en hasta el 90% de casos de lupus eritematoso neonatal (NLE)

Resto de requisitos/información

Ver Anticuerpos anti-ENA

Interpretación de los resultados

Los Ac anti-SS-A/Ro52, considerados dentro del sistema SS-A/Ro junto con los anti-SS-A/Ro60, son criterio diagnóstico de SS. Se presentan en una amplia variedad de patologías autoinmunes. Su presencia aislada (sin anti-SS-A/Ro60) es elevada en MII y ES y también se ha observado en enfermedades órgano-específicas y patologías no autoinmunes como infecciones y neoplasias.

Bibliografía

Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, Carsons SE et al. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European consensus group. *Ann Rheum Dis* 2002;61:554-8.

Schulte-Pelkum J, Fritzler M, Mahler M. Latest update on the Ro/SS-A autoantibody system. *Autoimmun Rev* 2009;8:632-7.

López-Longo FJ, Rodíhuez-Mahou M, Escalona M, Pérez T, Monteagudo I, Sánchez-Atrio et al. Heterogeneity of the anti-Ro(SSA) response in rheumatic diseases. *J Rheumatol* 1994;21:1450-6.

Peene I, Meheus L, Veys EM, De Keyser F. Diagnostic associations in a large and consecutively identified population positive for anti-SS-A and/or anti-SSB: the range of associated diseases differs according to the detailed serotype. *Ann Rheum Dis* 2002;61:1090-4.

Ghillani P, André C, Toly C, Rouquette AM, Bengoufa D, Nicaise P et al. Clinical significance of anti-Ro52 (TRIM21) antibodies non-associated with anti-SSA 60 kDa antibodies: Results of a multicentric study. *Autoimmun Rev* 2011;10:509-13.

Fritsch C, Hoebeke J, Dali H, Ricchiuti V, Isenberg DA, Meyer O et al. 52-kDa Ro/SSA epitopes preferentially recognized by antibodies from mothers of children with neonatal lupus and congenital heart block. *Arthritis Res Ther* 2006;8:R4.

Agmon-Levi N, Damoiseaux J, Kallenberg C, Sack U, Witte T, Herold M et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis* 2014;73:17-23.

ANTICUERPOS ANTI-SS-B/La

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-SS-B/La son Ac anti-ENA (extractable nuclear antigen). Generalmente se presentan en asociación con los anti-SS-A/Ro60 y/o anti-SS-A/Ro52, siendo su presencia aislada muy infrecuente. Por tanto, sus asociaciones clínicas son similares a las de los Ac del sistema anti-SS-A/Ro: síndrome de Sjögren (SS), lupus eritematoso cutáneo subagudo (LECS), lupus neonatal y otras enfermedades autoinmunes sistémicas, principalmente, lupus eritematoso sistémico (LES). Sin embargo, recientemente se ha descrito que la presencia aislada de anti-SSB (en ausencia de anti-SSA/Ro60 y/o anti-SSA/Ro52) no se asocia con el fenotipo clínico del SS.

Resto de requisitos/información

Ver Anticuerpos anti-ENA

Interpretación de los resultados

Los Ac anti-SS-B no son específicos de ninguna patología en concreto por lo que su positividad deberá ser interpretada dentro del contexto clínico. Hay que tener en cuenta que la presencia aislada de estos autoAc no se asocia con el fenotipo característico del SS.

Bibliografía

Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, carsons SE et al. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European consensus group. Ann Rheum Dis 2002;61:554-8.

Peene I, Meheus L, Veys EM, De keyser F. Diagnostic associations in a large and consecutively identified population positive for anti-SS-A and/or anti-SSB: the range of associated diseases differs according to the detailed serotype. Ann Rheum Dis 2002;61:1090-4.

Agmon-Levi N, Damoiseaux J, Kallenberg C, Sack U, Witte T, Herold M et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. Ann Rheum Dis 2014;73:17-23.

Baer AN, Mc Adams De Marco M, Shiboski SC, Lam MY, Challacombe S, Daniels TE et al. The SSB-positive/SSA-negative antibody profile is not associated with key phenotypic features of Sjögren's syndrome. Ann Rheum Dis 2015;74:1557-61.

ANTICUERPOS ANTI-RNP

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-RNP son Ac anti-ENA (extractable nuclear antigen). Los determinados en la rutina clínica son los anti-U1-RNP dirigidos contra distintas proteínas (A 34 kD, CC 22 kD y 68-70 kD) que forman parte de un complejo ribonucleoproteico que interviene en el procesamiento del ARN. El antígeno Sm también forma parte de este complejo por lo que los Ac anti-Sm aparecen muchas veces junto con los anti-U1RNP. Las principales asociaciones clínicas de los Ac anti-U1RNP son:

- La enfermedad mixta del tejido conectivo (EMTC) en la que son considerados como criterio diagnóstico, especialmente, en ausencia de Ac anti-Sm y anti-DNA nativo (prevalencia 100%). Su ausencia prácticamente excluye esta enfermedad.
- Otras enfermedades autoinmunes sistémicas, principalmente, lupus eritematoso sistémico (LES) (15-30%).

Resto de requisitos/información

Ver Anticuerpos anti-ENA

Interpretación de los resultados

Los Ac anti-RNP (U1RNP) son criterio diagnóstico de EMTC y, en este contexto, generalmente presentan ANA con patrón moteado a título elevado.

Bibliografía

Venables PJ. Mixed connective tissue disease. *Lupus* 2006;15:132-7.

Agmon-Levi N, Damoiseaux J, Kallenberg C, Sack U, Witte T, Herold M et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis* 2014;73:17-23.

ANTICUERPOS ANTI-Sm

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-Sm son Ac anti-ENA (extractable nuclear antigen). Se dirigen contra distintas proteínas (el antígeno principal es la proteína D1) que forman parte de un complejo ribonucleoproteico que interviene en el procesamiento del ARN. El antígeno U1RNP también forma parte de este complejo por lo que los Ac anti-Sm aparecen muchas veces junto con los anti-U1RNP. Su principal asociación clínica es el lupus eritematoso sistémico (LES) en el que su presencia es considerada como criterio diagnóstico. La prevalencia de los Ac anti-Sm varía según la población estudiada lo que refleja la influencia de factores genéticos en el desarrollo de estos autoAc. Así, se han descrito en un 30% de pacientes afroamericanos mientras que únicamente los presentan un 5-10% de pacientes caucasoides.

Resto de requisitos/información

Ver Anticuerpos anti-ENA

Interpretación de los resultados

Los Ac anti-Sm son criterio diagnóstico de LES.

Bibliografía

Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997;40:1725.

Ching KH, Burbelo PD, Tipton C, Wei C, Petri M, Snaz I et al. Two major autoantibody clusters in systemic lupus erythematosus. *PLoS One* 2012;7:e32001.

Agmon-Levi N, Damoiseaux J, Kallenberg C, Sack U, Witte T, Herold M et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis* 2014;73:17-23.

ANTICUERPOS ANTI-Scl-70 (TOPOISOMERASA)

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-Scl-70 son Ac anti-ENA (extractable nuclear antigen) dirigidos contra la topoisomerasa I, enzima que participa en la replicación del ADN. Se asocian con esclerosis sistémica (ES) (18-30%), fundamentalmente, con la forma difusa (65%) siendo su especificidad diagnóstica muy elevada (>95%). Su asociación con otros autoAc marcadores de ES, por ej. anti-centrómero, es muy rara.

Resto de requisitos/información

Ver Anticuerpos anti-ENA

Interpretación de los resultados

Los Ac anti-Scl-70 son criterios de clasificación de ES y se asocian fundamentalmente con su forma difusa.

Bibliografía

Hamaguchi Y. Autoantibody profiles in systemic sclerosis: Predictive value for clinical evaluation and prognosis. J Dermatol 2010;37:42-53.

Avouac J, Fransen J, Walker UA, Riccieri V, Smith V, Muller C et al. EUSTAR Group. Preliminary criteria for the very early diagnosis of systemic sclerosis: results of a Delphi Consensus Study from EULAR Scleroderma Trials and Research Group. Ann Rheum Dis 2011;70:476-81.

Agmon-Levi N, Damoiseaux J, Kallenberg C, Sack U, Witte T, Herold M et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. Ann Rheum Dis 2014;73:17-23.

ANTICUERPOS ANTI-Jo-1

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-Jo-1 son Ac anti-ENA (extractable nuclear antigen) dirigidos contra la histidil-tRNA sintetasa. Son los más frecuentemente detectados dentro del grupo de Ac anti-tRNA sintetasa. La localización celular de estos antígenos es citoplasmática por lo que no son realmente Ac anti-nucleares (ANA). De hecho, se pueden detectar en sueros ANA negativos en los que observa una tinción citoplasmática difusa/granular. Su presencia se asocia con miopatías inflamatorias idiopáticas (MII) y muchos de los pacientes con estos Ac presentan el denominado síndrome anti-sintetasa (miositis, enfermedad pulmonar intersticial, manos de mecánico, artritis no erosiva, fenómeno de Raynaud y fiebre).

En concreto, los Ac anti-Jo-1 son marcador diagnóstico de MII. Su especificidad es muy elevada ya que los anti-Jo-1 se encuentran casi exclusivamente en pacientes con MII. Su sensibilidad diagnóstica en adultos es de 25-30% aumentando a un 60% en pacientes con el síndrome anti-sintetasa. Los Ac anti-Jo-1, en general los anti-sintetasa, se asocian con un curso clínico severo y peor pronóstico. Se presentan frecuentemente con Ac anti-SS-A/Ro52 y esta asociación predispone a una enfermedad pulmonar intersticial más severa con peor respuesta al tratamiento. El título de Ac fluctúa con la actividad de la enfermedad y puede desaparecer con el tratamiento.

Resto de requisitos/información

Ver Anticuerpos anti-ENA

En casos de sospecha de MII o patrón citoplasmático compatible por inmunofluorescencia indirecta, se realiza directamente un inmunoblot que detecta Ac asociados a estas patologías (ver Perfil de Ac asociados a miositis).

Interpretación de los resultados

Los Ac anti-Jo-1 están asociados a MII principalmente al síndrome anti-sintetasa.

Bibliografía

Gunawardena H, Betteridge ZE, McHugh NJ. Myositis-specific autoantibodies: their clinical and pathogenic significance in disease expression. *Rheumatology* 2009;48:607-12.

Agmon-Levi N, Damoiseaux J, Kallenberg C, Sack U, Witte T, Herold M et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis* 2014;73:17-23.

ANTICUERPOS ANTI-PROTEINA RIBOSOMAL P

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-proteína ribosomal P (RibP) son Ac que se dirigen contra fosfoproteínas incluidas en la subunidad 60S del ribosoma. Por inmunofluorescencia indirecta, presentan un patrón nucleolar y citoplasmático difuso. Son específicos de lupus eritematoso sistémico (LES) y muestran una prevalencia muy variable que puede ser explicada por la influencia de factores genéticos en su desarrollo. Así, se ha descrito una prevalencia mayor de estos autoAc en pacientes afroamericanos y japoneses que en caucasoides. Además, su frecuencia es mayor en el LES infantil. Se asocian con afectación neurológica y nefritis lúpica y sus niveles se correlacionan con la actividad de la enfermedad.

La detección aislada de los Ac anti-RibP es muy infrecuente ya que generalmente se encuentran asociados a Ac anti-DNA nativo y/o anti-Sm.

Utilidad clínica

Diagnóstico y monitorización de LES.

Descripción del método

La determinación de Ac anti-Rib-P se realiza mediante inmunoblot en el que el antígeno se encuentra absorbido en una tira. La señal de reacción que permite su identificación se obtiene mediante reacción enzimática. El resultado final se cuantifica mediante escaneo de la intensidad de reacción correspondiente a cada antígeno.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Interpretación de los resultados

Los resultados se informan como negativos o positivos para anti-RibP.

Los Ac anti-Rib-P son específicos de LES.

Tiempo de respuesta

15 días

Bibliografía

Hoffman IE, Lauwerys BR, De Keyser F, Huizinga TW, Isenberg D, Cebecauer L et al. Juvenile-onset systemic lupus erythematosus: different clinical and serological pattern than adult-onset systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2009;68:412-5.

Hirohata S. Anti-ribosomal P antibodies and lupus nephritis. *Clin Exp Nephrol* 2011;15:471-7.

Hanly JG, Urowitz MB, Su L, Bae SC, Gordon C, Clarke A et al. Autoantibodies as biomarkers for the prediction of neuropsychiatric events in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2011;70:1726-32.

ANTICUERPOS ANTI-HISTONAS

Información clínica

Las histonas son proteínas catiónicas que junto con el ADN forman el nucleosoma que es la unidad fundamental de empaquetamiento de la cromatina. Al ser su antígeno nuclear, los Ac anti-histonas presentan por inmunofluorescencia indirecta un patrón nuclear, generalmente, homogéneo. Los Ac anti-histonas se presentan en distintas enfermedades autoinmunes sistémicas, principalmente lupus eritematoso sistémico. Sin embargo, su mayor utilidad diagnóstica tiene lugar en sospecha de lupus inducido por drogas (especialmente después de tratamiento con procainamida, hidralacina, isoniacida, clorpromacina, metildopa, beta bloqueadores, anticonvulsivos, sulfasalicina o captopril). Su sensibilidad diagnóstica en estos casos es del 95% pero, para establecer un diagnóstico definitivo, debe ser excluida la presencia de otros marcadores de LES (anti-DNA nativo y anti-Sm). Los Ac anti-histona tienden a desaparecer en aproximadamente un año después de suspender el tratamiento. En casos de lupus inducido por agentes anti-TNF α , el perfil de autoAc asociado es diferente al del lupus inducido clásico ya que la prevalencia de Ac anti-histonas es mucho menor mientras que la presencia de Ac anti-DNA nativo y anti-ENA es mayor.

Utilidad clínica

Diagnóstico y monitorización del lupus inducido por drogas (especialmente procainamida, hidralacina e isoniacida).

Descripción del método

La determinación de Ac anti-histonas se realiza mediante inmunoblot en el que el antígeno se encuentra absorbido en una tira. La señal de reacción que permite su identificación se obtiene mediante reacción enzimática. El resultado final se cuantifica mediante escaneo de la intensidad de reacción correspondiente a cada antígeno.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Interpretación de los resultados

Los resultados se informan como negativos o positivos para anti-histonas.

Los Ac anti-histonas no son específicos de ninguna patología en concreto. Tienen una elevada sensibilidad diagnóstica en casos de sospecha de lupus inducido por drogas que no presentan marcadores específicos de LES (anti-DNA nativo y anti-Sm).

Tiempo de respuesta

15 días

Bibliografía

Vedove CD, Del Giglio M, Schena D, Girolomoni G. Drug-induced lupus erythematosus. Arch Dermatol Res 2009;301:99-105.

PERFIL DE ANTICUERPOS ASOCIADOS A MIOSITIS

Información clínica

La polimiositis (PM), la dermatomiositis (DM), el síndrome anti-sintetasa y la miopatía autoinmune necrotizante son las miopatías inflamatorias idiopáticas (MII) con base autoinmune. Se caracterizan por la presencia de autoanticuerpos (autoAc) que pueden ser específicos o estar también asociados a otras enfermedades autoinmunes sistémicas. Actualmente, se considera que la PM es una entidad rara sin una clara asociación con un determinado autoAc mientras que aumenta la evidencia de que cada Ac específico se asocia con un espectro clínico característico. La siguiente tabla muestra los Ac específicos de MII y su asociación clínica

Anticuerpo	Antígeno	Asociación clínica
anti-sintetasa (Jo-1, PL-7, PL-12, EJ etc.)	aminoacil-tRNA sintetasa	Síndrome anti-sintetasa
anti-Mi-2	Subunidad NuRD del complejo remodelación y desacetilasa del nucleosoma	Dermatomiositis (DM)
anti-TIF1γ	Factor de transcripción intermediario 1 γ	DM (asociación neoplasia)
anti-NXP2	Proteína 2 de la matriz nuclear	DM
anti-MDA-5	Proteína 5 asociada a la diferenciación del melanoma	DM amiopática (asociación E. pulmonar intersticial)
anti-SAE	Enzima activador de SUMO-1	DM amiopática
anti-SRP	Partícula de reconocimiento de señal	Miopatía necrotizante
anti-HMGCR	3-hydroxy-3-metilglutaril-CoA reductasa	Miopatía necrotizante

Los Ac anti-sintetasa son específicos de MII y muchos de los pacientes con estos Ac presentan el denominado síndrome anti-sintetasa (miositis, enfermedad pulmonar intersticial, manos de mecánico, artritis no erosiva, fenómeno de Raynaud y fiebre). Los Ac anti-Jo-1 son los Ac anti-sintetasa más frecuentes. Su sensibilidad diagnóstica en adultos es de 25-30% aumentando a un 60% en pacientes con el síndrome anti-sintetasa.

Los Ac anti-Mi-2 se detectan en el 10-30% de pacientes con MII, especialmente DM. Se detectan muy infrecuentemente en PM. Son marcadores de buen pronóstico y se asocian con escasa afectación pulmonar y articular.

Los Ac anti-TIF1γ se detectan exclusivamente en DM tanto adulta como juvenil con una prevalencia del 15-25%. Se asocian con afectación cutánea severa en niños y adultos y una elevada asociación con neoplasia restringida a adultos. Niveles elevados de anti-TIF1γ aumentan el riesgo de un tumor asociado mientras que un resultado negativo prácticamente excluye el riesgo de neoplasia debido a su elevado valor predictivo negativo. Los pacientes anti-TIF1γ positivos presentan una baja prevalencia de fenómeno de Raynaud, artritis y afectación pulmonar.

Los Ac anti-NXP2 han sido descritos en aproximadamente el 25% de pacientes con DM adulta o juvenil. En niños, se asocian con lesiones cutáneas severas como calcinosis. Estudios recientes sugieren una asociación de estos autoAc con neoplasia en adultos.

Los Ac anti-MDA-5 son específicos de DM con una prevalencia del 12-35%. Los pacientes con estos autoAc no presentan afectación muscular (DM amiopática) pero tienen una elevada prevalencia de enfermedad pulmonar intersticial (EPI) rápidamente progresiva con mal pronóstico.

Los Ac anti-SAE son específicos de DM con una prevalencia del 1,5-8%. El comienzo de la DM en los pacientes positivos para este autoAc es amiopático progresando posteriormente a miositis. Se asocian frecuentemente con afectación gastrointestinal severa generalmente disfagia.

Los Ac anti-SRP son específicos de MII presentándose en el 4-8% de pacientes. Su presencia está restringida a un síndrome caracterizado por una miopatía rápidamente progresiva, niveles muy elevados de CK e, histológicamente, por necrosis muscular severa. Este síndrome se ha definido como miopatía necrotizante autoinmune (MAN). Los pacientes anti-SRP positivos presentan una pobre respuesta al tratamiento con corticoides

Los Ac anti-HMGCR son un marcador serológico de MAN. Inicialmente se describieron en pacientes con miositis inducida por tratamiento con estatinas que inhiben específicamente el enzima HMGCR implicado en la síntesis del colesterol. Posteriormente, se comprobó que estos autoAc se asociaban con MAN pero no inducida exclusivamente por estatinas.

Los Ac anti-SSA/Ro52 no son específicos de MII pero son los autoAc asociados más prevalentes detectándose en el 30% de los pacientes frecuentemente en combinación con otros autoAc específicos. Los pacientes con MII positivos para anti-SSA/Ro52 presentan un peor pronóstico debido principalmente a la elevada asociación de estos autoAc con EPI.

Utilidad clínica

Diagnóstico y monitorización de MII.

Descripción del método

Inmunoblot que detecta Ac asociados a MII. En esta técnica, los antígenos correspondientes se encuentran separados en una tira. La señal de reacción que permite la identificación individual de los autoAc se obtiene mediante reacción enzimática que se interpreta visualmente.

El inmunoblot que se utiliza actualmente contiene los siguientes Ag: sintetasas Jo-1, PL7, PL12 y EJ, Mi-2, MDA5, TIF1gamma, SAE, NXP2, SRP y SSA/Ro52. No contiene el Ag HMGCR.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Requisitos de realización:

Alta sospecha de MII incluso aunque los Ac anti-nucleares sean negativos

Interpretación de los resultados

Los resultados se informan como:

- Negativos: los Ac que se han determinado según el algoritmo diagnóstico
- Positivos: para el correspondiente Ac identificado. También se indican los que son negativos.

La positividad para los Ac específicos anti-Jo-1, PL-7, PL-12, EJ, SRP, Mi-2, MDA-5, SAE, TIF1γ y NXP2 apoya el diagnóstico de MII.

Tiempo de respuesta

15 días

Bibliografía

Ghirardello A, Borella E, Beggio M, Fanceschini F, Fredi M, Doria A. Myositis autoantibodies and clinical phenotypes. Autoimmun Highlights 2014;5:69-75.

Tansley S, Gunawardena H. The evolving spectrum of Polymyositis and Dermatomyositis- Moving towards clinicoserological syndromes: A critical review. Clin Rev Allerg Immunol 2014;47:264-73.

Dalakas MC. Inflammatory muscle diseases. New Engl J Med 2015;372:1734-47.

ANTICUERPOS ANTI-PL-7

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-PL-7 pertenecen al grupo de Ac anti-tRNA sintetasa, siendo su antígeno la treonil tRNA sintetasa. La localización celular de los enzimas tRNA sintetasa es citoplasmática por lo que estos autoAc presentan por inmunofluorescencia indirecta una tinción citoplasmática difusa/granular. Como todos los Ac anti-sintetasa, los Ac anti-PL7 se asocian con miopatías inflamatorias idiopáticas (MII), especialmente con el síndrome anti-sintetasa (miositis, enfermedad pulmonar intersticial, manos de mecánico, artritis no erosiva, fenómeno de Raynaud y fiebre). Su frecuencia en pacientes con MII es menor que la de los Ac anti-Jo-1 (2-3%).

Resto de información

Ver Perfil de Ac asociados a miositis

ANTICUERPOS ANTI-PL-12

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-PL-12 pertenecen al grupo de Ac anti-tRNA sintetasa, siendo su antígeno la alanil tRNA sintetasa. La localización celular de los enzimas tRNA sintetasa es citoplasmática por lo que estos autoAc presentan por inmunofluorescencia indirecta una tinción citoplasmática difusa/granular. Como todos los Ac anti-sintetasa, los Ac anti-PL12 se asocian con miopatías inflamatorias idiopáticas (MII), especialmente con el síndrome anti-sintetasa (miositis, enfermedad pulmonar intersticial, manos de mecánico, artritis no erosiva, fenómeno de Raynaud y fiebre). Su frecuencia en pacientes con MII es menor que la de los Ac anti-Jo-1 (2-3%).

Resto de Información

Ver Perfil de Ac asociados a miositis

ANTICUERPOS ANTI-EJ

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-EJ pertenecen al grupo de Ac anti-tRNA sintetasa, siendo su antígeno la alanil tRNA sintetasa. La localización celular de los enzimas tRNA sintetasa es citoplasmática por lo que estos autoAc suelen presentar por inmunofluorescencia indirecta una tinción citoplasmática difusa/granular. Como todos los Ac anti-sintetasa, los Ac anti-EJ se asocian con miopatías inflamatorias idiopáticas (MII), especialmente con el síndrome anti-sintetasa (miositis, enfermedad pulmonar intersticial, manos de mecánico, artritis no erosiva, fenómeno de Raynaud y fiebre). Su frecuencia en pacientes con MII es menor que la de los Ac anti-Jo-1, PL7 y PL12 (1%).

Resto de información

Ver Perfil de Ac asociados a miositis

ANTICUERPOS ANTI-Mi-2

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-Mi-2 reconocen un complejo multiproteico nuclear implicado en la regulación de la transcripción. Por tanto, son Ac anti-nucleares (ANA) presentando por inmunofluorescencia indirecta un patrón moteado generalmente a títulos elevados. Son específicos de miopatías inflamatorias idiopáticas (MII) y tienen una sensibilidad diagnóstica del 10-30%. Aparecen fundamentalmente en pacientes con dermatomiositis (DM). Se detectan muy infrecuentemente en polimiositis (PM). Son marcadores de buen pronóstico y se asocian con escasa afectación pulmonar y articular.

Resto de información

Ver Perfil de Ac asociados a miositis

ANTICUERPOS ANTI-MDA-5

Información clínica

Los Ac anti-MDA-5 son específicos de dermatomiositis (DM) con una prevalencia del 12-35%. Los pacientes con estos autoAc no presentan afectación muscular (DM amiopática) pero tienen una elevada prevalencia de enfermedad pulmonar intersticial (EPI) rápidamente progresiva con mal pronóstico.

La inmunofluorescencia indirecta (IFI) en células HEp-2 suele ser negativa.

Resto de información

Ver Perfil de Ac asociados a miositis

ANTICUERPOS ANTI-TIF1γ

Información clínica

Los Ac anti-TIF1γ se detectan exclusivamente en dermatomiositis (DM) tanto adulta como juvenil con una prevalencia del 15-25%. Se asocian con afectación cutánea severa en niños y adultos y una elevada asociación con neoplasia restringida a adultos. Niveles elevados de anti-TIF1γ aumentan el riesgo de un tumor asociado mientras que un resultado negativo prácticamente excluye el riesgo de neoplasia debido a su elevado valor predictivo negativo. Los pacientes anti-TIF1γ positivos presentan una baja prevalencia de fenómeno de Raynaud, artritis y afectación pulmonar.

La inmunofluorescencia indirecta (IFI) en células HEp-2 suele ser negativa.

Resto de información

Ver Perfil de Ac asociados a miositis

ANTICUERPOS ANTI-SAE

Información clínica

Los Ac anti-SAE son específicos de dermatomiositis (DM) con una prevalencia del 1,5-8%. El comienzo de la DM en los pacientes positivos para este autoAc es amiopático progresando posteriormente a miositis. Se asocian frecuentemente con afectación gastrointestinal severa generalmente disfagia.

La inmunofluorescencia indirecta (IFI) en células HEp-2 suele ser negativa.

Resto de información

Ver Perfil de Ac asociados a miositis

ANTICUERPOS ANTI-NXP2

Información clínica

Los Ac anti-NXP2 han sido descritos en aproximadamente el 25% de pacientes con dermatomiositis (DM) adulta o juvenil. En niños, se asocian con lesiones cutáneas severas como calcinosis. Estudios recientes sugieren una asociación de estos autoAc con neoplasia en adultos.

La inmunofluorescencia indirecta (IFI) en células HEp-2 suele ser negativa.

Resto de información

Ver Perfil de Ac asociados a miositis

ANTICUERPOS ANTI-SRP

Información clínica

Los Ac anti-SRP son específicos de miopatías inflamatorias idiopáticas (MII) presentándose en el 4-8% de pacientes. Su presencia está restringida a un síndrome caracterizado por una miopatía rápidamente progresiva, niveles muy elevados de CK e, histológicamente, por necrosis muscular severa. Este síndrome se ha definido como miopatía necrotizante autoinmune (MAN). Los pacientes anti-SRP positivos presentan una pobre respuesta al tratamiento con corticoides

Resto de información

Ver Perfil de Ac asociados a miositis

ANTICUERPOS ANTI-OJ

Los anticuerpos (Ac) anti-OJ pertenecen al grupo de Ac anti-tRNA sintetasa, siendo su antígeno la isoleucil tRNA sintetasa. La localización celular de las enzimas tRNA sintetasa es citoplasmática por lo que estos autoAc suelen presentar por inmunofluorescencia indirecta una tinción citoplasmática difusa/granular. Como todos los Ac anti-sintetasa, los Ac anti-OJ se asocian con miopatías inflamatorias idiopáticas (MII), especialmente con el síndrome anti-sintetasa (miositis, enfermedad pulmonar intersticial, manos de mecánico, artritis no erosiva, fenómeno de Raynaud y fiebre). Su frecuencia en pacientes con MII es menor que la de los Ac anti-Jo-1, PL7, PL12 y EJ (<1%).

Utilidad clínica

Diagnóstico de MII

Descripción del método

Inmunoblot que detecta Ac OJ. En esta técnica, los antígenos correspondientes se encuentran separados en una tira. La señal de reacción que permite la identificación individual de los autoAc se obtiene mediante reacción enzimática que se interpreta visualmente.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Requisitos de realización:

Alta sospecha de MII especialmente asociada con enfermedad pulmonar intersticial.

Interpretación de los resultados

Los resultados se informan como: Negativos/Positivo.

Tiempo de respuesta

15 días

Bibliografía

Vulsteke JB, Satoh M, Malyavantham K, Bossuyt X, De Langhe E, Mahler M. Anti-OJ autoantibodies: Rare or underdetected?. *Autoimmun Rev* 2019;18:658

ANTICUERPOS ANTI-CN1a (cytosolic 5'-nucleotidase 1 A)**Información clínica**

Dentro del espectro de las miopatías inflamatorias idiopáticas (MII), los Ac anti-CN1a se asocian específicamente con miositis de cuerpos de inclusión (MCI) detectándose en $\approx 40\%$ de los pacientes. Sin embargo, estos autoAc no son exclusivos de este tipo de MII ya que también se han detectado en enfermedades autoinmunes sistémicas como lupus eritematoso sistémico (LES) ($\approx 20\%$) y síndrome de Sjögren (SSj) ($\approx 35\%$).

Utilidad clínica

Diagnóstico de MCI.

Descripción del método

Inmunoblot que detecta Ac asociados a MII incluyendo el CN1a. En esta técnica, los antígenos correspondientes se encuentran separados en una tira. La señal de reacción que permite la identificación individual de los autoAc se obtiene mediante reacción enzimática que se interpreta visualmente.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Requisitos de realización:

Alta sospecha de MCI con Ac anti-nucleares (ANA) positivos

Interpretación de los resultados

Los resultados se informan como: Negativos/Positivo.

En el diagnóstico diferencial de las MII, la positividad para anti-CN1a apoya el diagnóstico de MII. Sin embargo, hay que tener en cuenta que no es un autoAc específico y que también puede estar presente en enfermedades autoinmunes sistémicas como LES y SSj.

Tiempo de respuesta

15 días

Bibliografía

Pluk H, van Hoeve BJA, van Dooren SHJ, Stammen-Vogelzangs J, van der Heijden A, Schelhaas HJ et al. Autoantibodies to cytosolic 5'-nucleotidase 1A in inclusion body myositis. *Annals Neurol* 2013;73:397-407

Larman HB, Salajegheh M, Nazareno R, Lam T, Sauld J, Steen H et al. Cytosolic 5'-nucleotidase 1A autoimmunity in sporadic inclusion body myositis. *Ann Neurol* 2013;73:408-18

Herbert MK, Stammen-Vogelzangs J, Verbeek MM, Rietveld A, Lundberg IE, Chinoy H et al. Disease-specificity of autoantibodies to cytosolic 5'-nucleotidase 1A in sporadic inclusion body myositis versus known autoimmune diseases. *Ann Rheum Dis* 2016;75:696-701.

PERFIL DE ANTICUERPOS ASOCIADOS A ESCLEROSIS SISTEMICA

Información clínica

La esclerosis sistémica (ES) es una enfermedad autoinmune sistémica caracterizada por fibrosis, vasculopatía y presencia de autoanticuerpos (autoAc) principalmente anti-nucleares. Las manifestaciones clínicas e inmunológicas de la enfermedad son muy heterogéneas debido a la posible implicación de una gran variedad de órganos y a la detección de varios autoAc que pueden ser específicos o estar también asociados a otras enfermedades autoinmunes sistémicas. Los autoAc incluidos en el perfil de ES son los específicos anti-centrómero, Scl70/DNA topoisomerasa I, RNA polimerasa III, U3RNP/Fibrilarina y Th/To y los asociados PM-Scl. Ku, NOR-90 y SSA/Ro52 (TRIM21). Se han observado ciertas correlaciones entre la presencia de estos autoAc y distintas manifestaciones clínicas de la enfermedad como se indica en la siguiente tabla. En la tabla, también se incluye el correspondiente patrón anti-nuclear por inmunofluorescencia indirecta sobre células HEp-2.

Anticuerpos específicos	Asociación clínica	Patrón nuclear (ANA)
anti-centrómero	ES limitada Hipertensión arterial pulmonar	Centrómero
anti-Scl70/DNA topoisomerasa I	ES difusa Fibrosis pulmonar	Homogéneo/ Homogéneo+nucleolar
anti-RNA polimerasa III	ES difusa Crisis renal	Moteado
anti-U3 RNP/fibrilarina	ES difusa Hipertensión arterial pulmonar	Nucleolar
anti-Th/To	ES limitada Hipertensión arterial pulmonar	Nucleolar
Anticuerpos no específicos	Asociación clínica	
anti-PM/Scl	ES limitada Solapamiento con miositis Fibrosis pulmonar Úlceras digitales	Nucleolar
anti-Ku	ES limitada Solapamiento con miositis	Moteado
anti-NOR-90	ES limitada Fibrosis pulmonar	Nucleolar
anti-SSA/Ro52 (TRIM21)	Enfermedad pulmonar intersticial	Negativo/Moteado/ Citoplasmático

Los Ac anti-centrómero son marcador diagnóstico de ES siendo uno de los criterios de clasificación de la enfermedad. Su sensibilidad en general es 12-43% siendo del 57-82% en la forma limitada y del 3-12% en la forma difusa. Los principales antígenos contra los que se dirigen estos autoAc son las proteínas centroméricas A y B. La asociación de los Ac anti-centrómero con fibrosis pulmonar y afectación renal es muy baja mientras que las manifestaciones orgánicas más prevalentemente asociadas son la hipertensión pulmonar y la hipomotilidad esofágica. Estos autoAc producen un patrón característico en la determinación de ANA por inmunofluorescencia indirecta sobre células HEp-2 por lo que, en general, no es necesaria su confirmación mediante un ensayo antígeno específico.

Los Ac anti-Scl70/DNA topoisomerasa I son marcadores diagnóstico de ES ya que se consideran uno de los criterios de clasificación de la enfermedad. Su sensibilidad en general es 18-30% siendo menos del 10% en la forma limitada y llegando hasta el 65% en la forma difusa. La especificidad analizada por varios métodos es de aproximadamente el 95%. Los pacientes con Ac anti-Scl70/DNA topoisomerasa generalmente tienen un curso de la enfermedad más severo que el de los pacientes con Ac anti-centrómero. Se asocian con implicación cutánea difusa y manifestaciones orgánicas (pulmonares, cardíacas y renales) especialmente con enfermedad pulmonar intersticial ya que se detectan en más del 50% de pacientes con ES que desarrollan fibrosis pulmonar. Estos autoAc producen un patrón nuclear de tipo homogéneo/ homogéneo+nucleolar.

La presencia de Ac anti-RNApol III se considera uno de los criterios de clasificación de ES. Se han descrito en un 3-19% de los pacientes dependiendo de su origen étnico siendo su prevalencia menor en caucosoides que en asiáticos y afro-americanos. Su presencia se asocia con manifestaciones cutáneas

difusas y extensas así como con afectación renal y articular. Los pacientes positivos para Ac anti-RNAPol III tienen un elevado riesgo de desarrollo de crisis renales relacionadas con esclerosis. Estos autoAc presentan un patrón anti-nuclear moteado.

Los Ac anti-U3 RNP/fibrilarina son específicos de ES. Se han detectado hasta en un 22% de pacientes con ES siendo menor su frecuencia en caucásicos (4-5%) que en afro-americanos (16-22%). Se detectan más frecuentemente en la forma difusa que en la limitada. Su presencia se asocia con el desarrollo de hipertensión arterial pulmonar. Estos autoAc presentan un patrón nucleolar.

Los Ac anti-ThTo son específicos de ES. Se detectan en un 4-13% de los pacientes presentándose más frecuentemente en la forma limitada de la enfermedad. Su presencia se asocia con una mayor frecuencia de hipertensión pulmonar, fibrosis pulmonar e implicación renal por lo que los pacientes anti-Th/To positivos tienen un peor pronóstico que los anti-centrómero positivos. Estos autoAc presentan un patrón nucleolar.

Los Ac anti-PM-Scl se presentan casi exclusivamente en pacientes con miopatía inflamatoria idiopática (MII) y/o esclerosis sistémica (ES). De hecho, se detectan en aproximadamente el 25% de los pacientes con síndrome de solapamiento polimiositis (PM)/ES, en 10% con PM/dermatomiositis (DM) y en 10% con ES. Son marcadores de buen pronóstico. Su patrón es nucleolar y, en general, se presentan a títulos elevados.

Los Ac anti-Ku se detectan raramente en la rutina diagnóstica. No son específicos de ninguna entidad clínica pero se detectan casi exclusivamente en pacientes con manifestaciones de enfermedades autoinmunes sistémicas principalmente miositis, artritis y enfermedad pulmonar intersticial. En ES, los Ac anti-Ku se asocian con la forma limitada y miositis. Su patrón anti-nuclear es moteado.

Los Ac anti-NOR-90 se detectan infrecuentemente en la rutina diagnóstica. Originalmente, se describieron como autoAc asociados con ES pero estudios más recientes indican que no se asocian con una enfermedad en concreto. Pueden detectarse en enfermedades tan variadas como LES, AR, cirrosis alcohólica y carcinoma hepatocelular. Aproximadamente el 75% de los pacientes con Ac anti-NOR-90 tienen una enfermedad autoinmune sistémica y un tercio de ellos presenta manifestaciones del espectro de la ES. El patrón de estos autoAc es nucleolar con un punteado característico.

Los Ac anti-SSA/Ro52 (TRIM21) no son específicos de ES presentándose en una amplia variedad de enfermedades autoinmunes y no autoinmunes como infecciones y neoplasias. Se presentan en el 20% de los pacientes con ES siendo el segundo autoAc más prevalente en esta enfermedad después de los Ac anti-centrómero. Su presencia aislada es decir, sin otros autoAc específicos de ES, se ha detectado en menos del 10% de los pacientes asociándose, en este caso, con enfermedad pulmonar intersticial y peor pronóstico.

Utilidad clínica

Diagnóstico y monitorización de ES.

Requisitos de realización:

- Alta sospecha de ES
- Patrón nucleolar con indicación clínica de Raynaud y/o ES

Descripción del método

Inmunoblot que detecta Ac asociados a MII. En esta técnica, los antígenos correspondientes se encuentran separados en una tira. La señal de reacción que permite la identificación individual de los autoAc se obtiene mediante reacción enzimática que se interpreta visualmente.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero. (Contenedor): Tubo de tapón rojo

Interpretación de los resultados

- Resultado negativo para todos los autoAc incluidos en el perfil:

Anti-Scl-70, Anti-Scl-70, proteínas centroméricas A y B (Cenp), RNA pol III, fibrilarina (U3-RNP), Th/To, PM-Scl, NOR-90, Ku y SSA/Ro52: NEGATIVOS

- Si se detecta algún autoAc, se indica positivo el identificado y negativos el resto de los incluidos en el perfil.

Tiempo de respuesta

15 días

Bibliografía

Van den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: an American College of Rheumatology/European League against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum* 2013;65:2737-47.

Mierau R, Moinszadeh P, Riemekasten G, Melchers I, Meurer M, Reichenberger F et al. Frequency of disease-associated and other nuclear autoantibodies in patients of the German network for systemic scleroderma: correlation with characteristic clinical features. *Arthritis Res Ther* 2011;13:R172

Conrad K, Schöbeler W, Hiepe F, Fritzler MJ. Autoantibodies in systemic autoimmune diseases. A diagnostic Reference. Autoantigens, Autoantibodies, Autoimmunity, Volumen 2, 3ª edición, 2015. PABST Science Publishers

Didier K, Bolko L, Giusti D, Toquet S, Robbins A, Antonicelli F et al. Autoantibodies associated with connective tissue diseases: What meaning for clinicians? *Front Immunol* 2018;9:541

Wodkowski M, Hudson M, Proudman S, Walker J, Stevens W, Nikpour M et al. Monospecific anti-Ro52/TRIM21 antibodies in a tri-nation cohort of 1574 systemic sclerosis subjects: evidence of an association with interstitial lung disease and worse survival. *Clin Exp Rheumatol* 2015;33:S131-S133

ANTICUERPOS ANTI-PM-Scl

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-PM-Scl son Ac anti-nucleares (ANA) dirigidos contra un complejo macromolecular localizado en el nucléolo, nucleoplasma y citoplasma. Su patrón por inmunofluorescencia indirecta (IFI) es principalmente nucleolar y, en general, se presentan a títulos elevados. Estos autoAc se presentan casi exclusivamente en pacientes con miopatía inflamatoria idiopática (MII) y/o esclerosis sistémica (ES). De hecho, se detectan en aproximadamente el 25% de los pacientes con síndrome de solapamiento polimiositis (PM)/ES, en 10% con PM/dermatomiositis (DM) y en 10% con ES. Son marcadores de buen pronóstico.

Requisitos de realización

Alta sospecha de ES y patrón nucleolar

Resto de Información

Ver Perfil de Ac asociados a esclerosis sistémica

ANTICUERPOS ANTI-RNA polimerasa III

Información clínica

La presencia de Ac anti-RNA polimerasa III (RNAPol III) se considera uno de los criterios de clasificación de esclerosis sistémica (ES). Se han descrito en un 3-19% de los pacientes dependiendo de su origen étnico siendo su prevalencia menor en caucásicos que en asiáticos y afro-americanos. Su presencia se asocia con manifestaciones cutáneas difusas y extensas así como con afectación renal y articular. Los pacientes positivos para Ac anti-RNAPol III tienen un elevado riesgo de desarrollo de crisis renales relacionadas con ES. Estos autoAc presentan un patrón anti-nuclear moteado.

Requisitos de realización

Alta sospecha de ES con Ac anti-nucleares positivos y patrón moteado.

Resto de información

Ver perfil de Ac asociados a esclerosis sistémica

ANTICUERPOS ANTI-Th/To

Información clínica

Los Ac anti-ThTo son específicos de esclerosis sistémica (ES). Se detectan en un 4-13% de los pacientes presentándose más frecuentemente en la forma limitada de la enfermedad. Su presencia se asocia con una mayor frecuencia de hipertensión pulmonar, fibrosis pulmonar e implicación renal por lo que los pacientes anti-Th/To positivos tienen un peor pronóstico que los anti-centrómero positivos. Estos autoAc presentan un patrón nucleolar.

Requisitos de realización

Alta sospecha de ES con Ac anti-nucleares positivos y patrón nucleolar.

Resto de información

Ver perfil de Ac asociados a esclerosis sistémica

ANTICUERPOS ANTI-U3RNP/Fibrilarina

Información clínica

Los Ac anti-U3 RNP/fibrilarina son específicos de esclerosis sistémica (ES). Se han detectado hasta en un 22% de pacientes con ES siendo menor su frecuencia en caucasoides (4-5%) que en afro-americanos (16-22%). Se detectan más frecuentemente en la forma difusa que en la limitada. Su presencia se asocia con el desarrollo de hipertensión arterial pulmonar. Estos autoAc presentan un patrón nucleolar.

Requisitos de realización

Alta sospecha de ES con Ac anti-nucleares positivos y patrón nucleolar.

Resto de información

Ver perfil de Ac asociados a esclerosis sistémica

ANTICUERPOS ANTI-NOR-90

Información clínica

Los Ac anti-NOR-90 se detectan infrecuentemente en la rutina diagnóstica. Originalmente, se describieron como autoAc asociados con esclerosis sistémica (ES) pero estudios más recientes indican que no se asocian con una enfermedad en concreto. Pueden detectarse en enfermedades tan variadas como LES, AR, cirrosis alcohólica y carcinoma hepatocelular. Aproximadamente el 75% de los pacientes con Ac anti-NOR-90 tienen una enfermedad autoinmune sistémica y un tercio de ellos presenta manifestaciones del espectro de la ES. El patrón de estos autoAc es nucleolar con un punteado característico.

Requisitos de realización

Pacientes con Ac anti-nucleares positivos y patrón nucleolar compatible.

Resto de información

Ver perfil de Ac asociados a esclerosis sistémica

ANTICUERPOS ANTI-KU

Información clínica

Los Ac anti-Ku se detectan raramente en la rutina diagnóstica. No son específicos de ninguna entidad clínica pero se detectan casi exclusivamente en pacientes con manifestaciones de enfermedades autoinmunes sistémicas principalmente miositis, artritis y enfermedad pulmonar intersticial. En esclerosis sistémica (ES), los Ac anti-Ku se asocian con la forma limitada y miositis. Su patrón anti-nuclear es moteado.

Requisitos de realización

Alta sospecha de ES y/o miositis

Resto de información

Ver perfil de Ac asociados a esclerosis sistémica

ANTICUERPOS ANTI-FOSFOLIPIDOS

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-fosfolípido (FL) son un grupo heterogéneo de Ac que incluyen, entre otros, a los anti-cardiolipina (CL), a los anti- β_2 glicoproteína (β_2 GPI) y al anti-coagulante lúpico (AL). La presencia de estos Ac anti-FL forma parte del criterio diagnóstico de laboratorio del síndrome anti-fosfolípido (SAF). Los criterios clínicos consisten en trombosis arteriales o venosas y morbilidad en el embarazo. Al ser estas manifestaciones clínicas relativamente comunes a distintas patologías, la presencia de anti-FL es básica para definir el síndrome en un paciente determinado.

Los anti-CL y anti- β_2 GPI FL pueden ser de isotipo IgG y/o IgM. Su sensibilidad en el SAF es del 85-90% y la especificidad varía dependiendo de la metodología utilizada y los grupos estudiados. En general, la especificidad del AL y los anti- β_2 GPI se sitúa alrededor del 80% y es superior a la de los anti-CL (60%).

Los Ac anti-FL, principalmente los anti-CL, pueden aparecer en patologías distintas del SAF como:

- otras enfermedades autoinmunes sistémicas preferentemente LES (35%) en el que son considerados como criterio de clasificación y en el que se presentan generalmente asociados a SAF secundario.
- Infecciones virales y bacterianas (20-40%), neoplasias y exposición a fármacos.

El antígeno de los anti-CL no es realmente la CL sino la β_2 GPI. Esta proteína es un cofactor que, al unirse a fosfolípidos de membrana cargados negativamente como la CL, sufre un cambio conformacional presentando un epítipo críptico. Este epítipo de la β_2 GPI es el reconocido por los anti-CL en el SAF. Por el contrario, en enfermedades infecciosas, los anti-CL reconocen el fosfolípido puro (sin el cofactor β_2 GPI).

Utilidad clínica

Diagnóstico y monitorización del SAF y LES.

Descripción del método

Se determinan simultáneamente los anti-CL IgG, anti-CL IgM, anti- β_2 GPI IgG y anti β_2 GPI IgM mediante inmunoensayo de partículas direccionable por láser (*Addressable laser bead immunoassay, ALBIA*) utilizando como sustrato antigénico:

- Un complejo CL/ β_2 GPI para la detección de anti-CL ya que su detección requiere la presencia de este cofactor.
- β_2 GPI para la detección de anti- β_2 GPI.

El resultado final se cuantifica por detección de fluorescencia emitida. Para evaluar los resultados de la prueba, la respuesta de las muestras de los pacientes se compara directamente con la respuesta de los calibradores. Los resultados se expresan en:

- unidades GPL por mililitro (GPL U/mL) para los Ac anti-CL IgG
- unidades MPL por mililitro (MPL U/mL) para los Ac anti-CL IgM
- unidades por mililitro (U/mL) para los Ac anti- β_2 GPI IgG e IgM

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Anti-CL IgG: Positivo $\geq$ 20 GPL/mL

Anti-CL IgM: Positivo $\geq$ 20 MPL/mL.

Anti- β_2 GPI IgG: Positivo $\geq$ 20 U/mL

Anti- β_2 GPI IgM: Positivo $\geq$ 20 U/mL

Interpretación niveles de positividad:

Positivo bajo $\geq 20-39,9$

Positivo medio $\geq 40-79,9$

Positivo alto > 80

Interpretación de los resultados

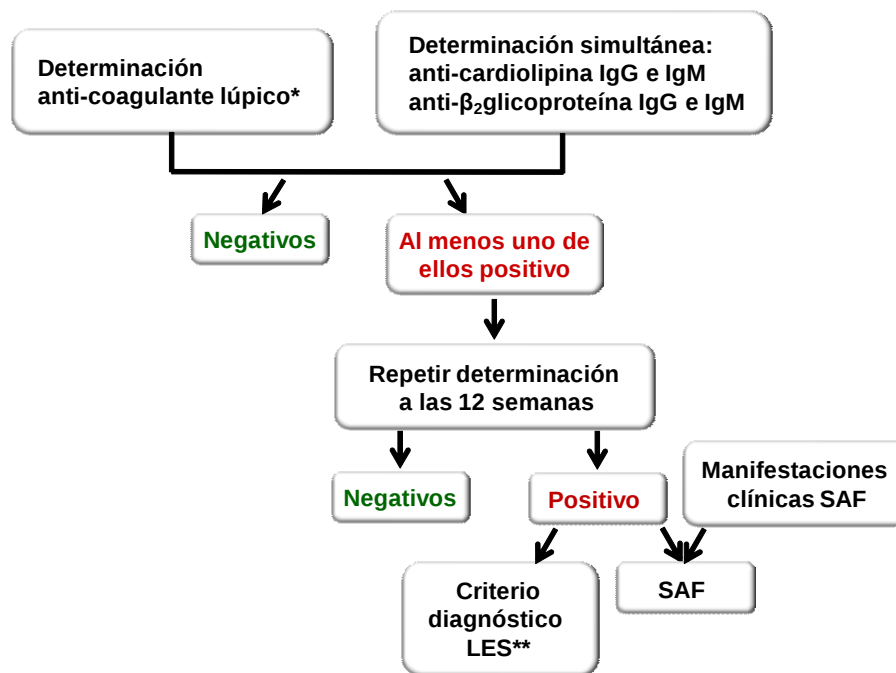
La presencia de Ac anti-CL IgG/IgM y anti- β_2 GPI IgG/IgM a título medio-alto es indicativa de SAF. Es necesario confirmar la positividad en el plazo de 12 semanas para confirmar el diagnóstico de SAF.

En sospecha de LES, la presencia de anti-FL se incluye dentro de uno de los criterios de clasificación de la enfermedad.

La detección aislada de anti-CL IgG/IgM no es específica de SAF pudiendo estar asociada con otras patologías no autoinmunes (infecciones, neoplasias y exposición a fármacos).

En el SAF y LES, los niveles de anti-FL no suelen variar mientras que en las patologías no autoinmunes su presencia suele ser transitoria.

Algoritmo diagnóstico



* Realización en el Servicio de Hematología

** Principalmente anti-cardiolipina y anti-coagulante lúpico

LES: lupus eritematoso sistémico; SAF: síndrome antifosfolípido

Tiempo de respuesta

5 días

Bibliografía

Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branco DW, Brey L, Cervera R et al. International consensus on an update of the classification criteria for definitive anti-phospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006;4:295-306.

Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 1997;40:1725

Pierangeli S, Harris N. A quarter of century in anticardiolipin antibody testing and attempted standardization has led us to here, which is? *Semin Thromb Haemost* 2008;34:313-28.

Pengo V, Biasiolo A, Pegoraro C, Cicchini U, Noventa F, Illiceto S. Antibody profiles for the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Thromb Haemost* 2005;93:1174-52.

ANTICUERPOS ANTI-CARDIOLIPINA IgG

Ver Anticuerpos anti-fosfolípidos

ANTICUERPOS ANTI-CARDIOLIPINA IgM

Ver Anticuerpos anti-fosfolípidos

ANTICUERPOS ANTI- β_2 GLICOPROTEINA IgG

Ver Anticuerpos anti-fosfolípidos

ANTICUERPOS ANTI- β_2 GLICOPROTEINA IgM

Ver Anticuerpos anti-fosfolípidos

ANTICUERPOS ANTI-PEPTIDO CICLICO CITRULINADO

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-péptido cíclico citrulinado (PCC) forman parte del grupo de Ac anti-proteína/péptido citrulinados. Este grupo de Ac reconocen epitopos que contienen residuos de arginina modificada post-traduccionalmente por citrulinización. Los Ac incluidos en este grupo son altamente específicos de la artritis reumatoide (AR) y su presencia ha sido incluida como criterio diagnóstico en los nuevos criterios propuestos para esta enfermedad en 2010. En estos criterios, se considera como anormalidad serológica positividad para estos autoAc y/o el factor reumatoide (FR). Los Ac anti-proteína/péptido citrulinados son más específicos que el FR presentando una sensibilidad similar.

Actualmente, los Ac anti-PCC son los Ac anti-proteína/péptido citrulinados más utilizados en la rutina diagnóstica. Presentan una especificidad desde el 95% hasta >99% y una sensibilidad del 70-80%. Su presencia en sujetos sanos y en pacientes con poliartritis indiferenciada de inicio predice con alta probabilidad el futuro desarrollo de AR (riesgo relativo de 25 y 28 respectivamente). Además, se asocian con el desarrollo de enfermedad erosiva.

Utilidad clínica

Diagnóstico y monitorización de la AR.

Descripción del método

Inmunoensayo de partículas direccionable por láser (*Addressable laser bead immunoassay, ALBIA*) utilizando como sustrato péptido cíclico citrulinado. El resultado final se cuantifica por detección de fluorescencia emitida. Para evaluar los resultados de la prueba, la respuesta de las muestras de los pacientes se compara directamente con la respuesta de los calibradores. Los resultados se expresan en U/mL.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Positivos ≥ 3 U/mL

Interpretación de los resultados

Incluso en ausencia de FR, un resultado positivo apoya fuertemente el diagnóstico de AR. En sujetos sanos y con poliartritis indiferenciada de inicio, su presencia tiene un elevado valor predictivo para el desarrollo de la enfermedad. .

Tiempo de respuesta

5 días

Bibliografía

Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO 3rd et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League against rheumatism initiative. *Ann Rheum Dis* 2010;69:1580-8.

Avouac J, Gossec L, Dougados M. Diagnostic and predictive value of anti-cyclic citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Ann Rheum Dis* 2006; 65:845-51.

ANTICUERPOS ANTI-CITOPLASMA DE NEUTROFILO

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-citoplasma de neutrófilos (ANCA) son un grupo heterogéneo de Ac dirigidos contra antígenos presentes en los gránulos azurófilos y específicos de los neutrófilos. Se describieron inicialmente en pacientes con glomerulonefritis rápidamente progresiva (GNRP) y vasculitis de vasos pequeños. Posteriormente, el espectro de patologías que también presentaban ANCA se amplió aunque en estos casos su valor diagnóstico y de seguimiento es menor.

Vasculitis de vasos pequeños

En estas patologías, se presentan dos patrones de fluorescencia: citoplasmático (c-ANCA) que se corresponde con reactividad frente al antígeno proteinasa 3 (PR3) y el perinuclear (p-ANCA) que generalmente se corresponde con reactividad frente a mieloperoxidasa (MPO). La asociación de estos autoAc con los distintos tipos de vasculitis se indica en la siguiente tabla:

Patología	Sensibilidad ANCA por IFI	Especificidad antigénica ANCA
PAG sistémica	90%	PR3 65-90%/ MPO 10%
PAG localizada	60%	PR3 65-90%/ MPO 10%
PAM	70%	MPO 70%/ PR3 10%
Vasculitis renal	70%	MPO 70-90%/ PR3 10-30%
Churg-Strauss*	40%	MPO 50%

* también denominado angéitis eosinofílica

ANCA: anti-citoplasma de neutrófilo; IFI: Inmunofluorescencia indirecta; MPO: mieloperoxidasa; PAG: poliangeítis granulomatosa (anteriormente granulomatosis de Wegener); PAM: poliangeítis microscópica; PR3: proteinasa 3

En ausencia de biopsia confirmatoria, la European League Against Rheumatism (EULAR) admite establecer el diagnóstico de vasculitis ante la positividad c-ANCA/PR3 y p-ANCA/MPO en el contexto de un cuadro clínico compatible. A pesar de la demostración de la patogenidad de los ANCA, no hay evidencia suficiente acerca de la utilidad de su cuantificación en la monitorización de la enfermedad o para predecir recidivas (aunque en muchos casos resulte conveniente), puesto que la evolución de los títulos a menudo es paralela a la respuesta al tratamiento. Por ello, se considera recomendable controlar estrechamente a los pacientes en los que se observa un rápido incremento de ANCA (especialmente c-ANCA/PR3) o su reaparición tras un periodo de negatividad para detectar y tratar rápidamente los posibles brotes.

Otras patologías

Además de los ANCA anti-MPO y anti-PR3, existe una amplia variedad (generalmente con patrón p-ANCA) dirigidos contra antígenos distintos como catepsina G, lactoferrina, proteína de incremento de la permeabilidad bacteriana (BPI), elastasa, lisozima, catalasa y β -glucuronidasa que se asocian con diferentes patologías. Las principales patologías que presentan estos ANCA son:

- enfermedad inflamatoria intestinal (EII) en la que la determinación de ANCA junto a la de Ac anti-Saccharomyces cerevisiae (ASCA) es de utilidad para el diagnóstico diferencial de colitis ulcerosa (CU) y enfermedad de Crohn (ECr). Los pacientes con CU presentan una frecuencia más elevada de ANCA y más baja de ASCA que los pacientes con ECr. La especificidad de esta combinación es muy elevada (95-99%) sin embargo la sensibilidad es menor (60%). La determinación combinada de ASCA y p-ANCA también es de utilidad en los casos de colitis indeterminada. El patrón p-ANCA-/ASCA+ predice la evolución de CI a ECr en el 80% de los pacientes y si el patrón es p-ANCA+/ASCA- el 65% de los pacientes evolucionarían a CU.

- otras patologías digestivas: preferentemente colitis ulcerosa (CU), hepatitis autoinmune (HAI) tipo I y colangitis esclerosante primaria (CEP).

- enfermedades autoinmunes sistémicas principalmente pacientes con artritis reumatoide (AR) y vasculitis (30%) en los que el antígeno mayoritario es la lactoferrina.

- vasculitis secundarias a fármacos. En general, en estos casos, la afectación es principalmente cutánea y, tras interrumpir el tratamiento, desaparecen tanto los ANCA como las manifestaciones clínicas.

- El 40-70% de niños con fibrosis quística presenta un patrón c-ANCA con especificidad anti-BPI cuya presencia se correlaciona con infecciones bacterianas crónicas típicas de esta enfermedad.

Utilidad clínica

Diagnóstico y monitorización de vasculitis de vasos pequeños. Diagnóstico diferencial de la EII (junto con la determinación de ASCA).

Descripción del método

Inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre neutrófilos humanos fijados en etanol. El resultado final se obtiene por observación al microscopio de la presencia o ausencia de patrones de fluorescencia característicos c-ANCA o p-ANCA. Es una técnica semi-cuantitativa en la que la titulación de los ANA se realiza mediante diluciones seriadas. Es importante señalar que la IFI no permite determinar la especificidad antigénica concreta de los ANCA (MPO/PR3 en casos de vasculitis).

El patrón p-ANCA observado mediante IFI puede ser debido a la presencia de Ac anti-nucleares (ANA) por lo que, en estos casos, es necesario descartar la presencia de ANA para informar los ANCA como positivos.

En el caso de las vasculitis asociadas a ANCA, la recomendación más aceptada y recogida por el European Vasculitis Study es la combinación de la IFI y de la determinación anti-MPO y anti-PR3 mediante técnicas específicas de antígeno (ver algoritmo diagnóstico).

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Se consideran niveles anormales de ANCA los títulos iguales a superiores a 1/40.

Interpretación de los resultados

La positividad para ANCA debe ser considerada según el contexto clínico:

- En vasculitis de vasos pequeños, su valor predictivo positivo (VPP) junto con el de anti-MPO/PR3 está en torno a 88-95% dependiendo fundamentalmente de la sospecha e indicación clínica. Así, en sujetos con valores de creatinina superiores a 3 mg/dL su VPP llega al 92% mientras que, en pacientes con valores inferiores, el VPP disminuye hasta el 50%. Por otra parte, un resultado negativo tiene un valor predictivo negativo (VPN) muy elevado (99%) para excluir la GNRp.

Un aumento en los títulos de ANCA no se correlaciona siempre con la actividad de la enfermedad pero, en estos casos, el paciente debe ser seguido para detectar y tratar los posibles brotes.

- En EII, un resultado ANCA positivo y ASCA negativo apoya el diagnóstico de CU mientras que el patrón contrario (ANCA negativo y ASCA positivo) sugiere el de ECr.

En casos de patrón p-ANCA, es necesario descartar la presencia de ANA. Cuando los ANA sean positivos, se informará que los ANCA no pueden ser determinados por IFI.

Algoritmo diagnóstico

El algoritmo diagnóstico dependerá de la sospecha diagnóstica: vasculitis de vasos pequeños y EII.

Sospecha clínica de vasculitis de vasos pequeños Determinación de ANCA por IFI y

anti-MPO/PR3 por técnicas Ag específicas

Positivo

c-ANCA y

anti-PR3

Negativo

No vasculitis

VPN >90%

Positivo*

p-ANCA y

anti-MPO

Positivo*

c-ANCA/p-ANCA Negativo

anti-MPO/PR3

PAG>

Vasculitis renal>

PAM>

PAE (muy raro)

Vasculitis renal>

PAM>

PAE>

PAG

Otras patologías:

conectivopatías,

EII etc..

Confirmación por biopsia

Biopsia

compatible

SI

NO

Vasculitis**

* Descartar la presencia de Ac anti-nucleares (ANA)

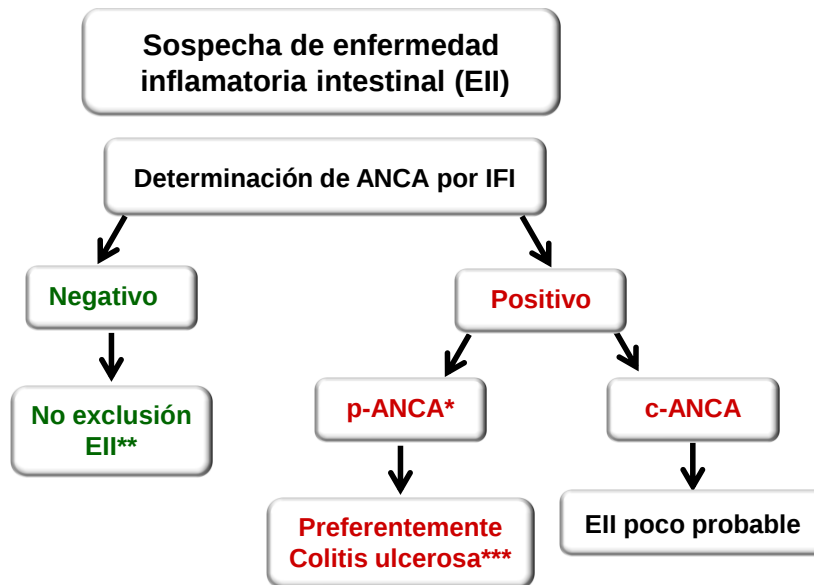
** Poco frecuente

IFI: Inmunofluorescencia indirecta; PAE: poliangeítis eosinofílica (anteriormente síndrome de

Churg-Strauss); PAG: poliangeítis granulomatosa

(anteriormente granulomatosis de Wegener);

PAM: poliangeítis microscópica; VPN: Valor predictivo negativo



* Descartar la presencia de Ac anti-nucleares (ANA)

** Enfermedad de Crohn en caso de Ac anti-Saccharomyces cerevisiae (ASCA) positivos

*** Ac anti-Saccharomyces cerevisiae (ASCA) negativos

Tiempo de respuesta

El tiempo de respuesta depende del resultado:

- Negativos: 5 días

- Positivos: 10 días

Petición urgente en sospecha de vasculitis: determinación de anti-MPO y anti-PR3 en el mismo día incluido sábado por la mañana. La determinación de ANCA se realiza al día siguiente.

Bibliografía

Savige J, Gillis D, Benson E, Davies D, Esnault V, Falk RJ et al. International Consensus on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). Am J Clin Pathol 1999;111:507-13.

Savige J, Dimech W, Fritzler M, Goeken J, Hagen EC, Jenette et al. International Group for Consensus Statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). Addendum to the International Consensus on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). Quality control guidelines, comments, and recommendations for testing in other autoimmune diseases. Am J Clin Pathol 2003;120:312-8.

Hellmich B, Flossmann O, Gross WL, Bacon P, Cohen-Tervaert JW, Guillevin L. et al. EULAR recommendations for conducting clinical studies and/or clinical trials in systemic vasculitis: focus on anti-neutrophil cytoplasm antibody-associated vasculitis. Ann Rheum Dis 2007;66:605-17.

Mainardi E, Villanacci V, Bassotti G, Liserre B, Rossi E, Incardona P et al. Diagnostic value of serological assays in pediatric inflammatory bowel disorders. Digestion 2007;75:210-4.

ANTICUERPOS ANTI-MIELOPEROXIDASA

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-mieloperoxidasa (MPO) son un tipo de Ac anti-citoplasma de neutrófilos (ANCA). Su antígeno, la MPO, es un enzima que se encuentra en los gránulos azúrofilos de los neutrófilos. Su presencia, además de la Ac anti-proteinasa 3 (PR3), es altamente específica de las vasculitis asociadas a ANCA (vasos pequeños). Por inmunofluorescencia indirecta (IFI), los Ac anti-MPO presentan generalmente un patrón p-ANCA (perinuclear) mientras que los anti-PR3 se asocian con un patrón c-ANCA (citoplasmático). La sensibilidad diagnóstica de estos autoAc es diferente en los distintos tipos de vasculitis (Tabla). La prevalencia de Ac anti-MPO es mayor en la poliangeítis microscópica (PAM) y en la forma aislada renal. Estos autoAc se presentan en el 50% de los pacientes con síndrome de Churg-Strauss (también denominado angeítis granulomatosa). En esta entidad, la presencia de anti-MPO permite distinguir dos grupos de pacientes: los positivos presentan manifestaciones típicas de vasculitis mientras que los negativos tienen una alta incidencia de infiltración eosinofílica en pulmón, corazón y tracto gastrointestinal. Dentro de las vasculitis asociadas a ANCA, los pacientes con poliangeítis granulomatosa (PAG, anteriormente granulomatosis de Wegener) tienen una menor prevalencia de anti-MPO.

Patología	Sensibilidad ANCA por IFI	Especificidad antigénica ANCA
PAG sistémica	90%	PR3 65-90%/ MPO 10%
PAG localizada	60%	PR3 65-90%/ MPO 10%
PAM	70%	MPO 70%/ PR3 10%
Vasculitis renal	70%	MPO 70-90%/ PR3 10-30%
Churg-Strauss*	40%	MPO 50%

* También denominado granulomatosis alérgica

ANCA: anti-citoplasma de neutrófilo; IFI: Inmunofluorescencia indirecta; MPO: mieloperoxidasa; PAG: poliangeítis granulomatosa (anteriormente granulomatosis de Wegener); PAM: poliangeítis microscópica; PR3: proteinasa 3

Los ANCA anti-MPO no se detectan en la púrpura de Schönlein-Henoch, arteritis de células gigantes, vasculitis de Kawasaki y enfermedad de Takayasu.

En ausencia de biopsia confirmatoria, la European League Against Rheumatism (EULAR) admite establecer el diagnóstico de vasculitis ante la positividad c-ANCA/PR3 y p-ANCA/MPO en el contexto de un cuadro clínico compatible. A pesar de la demostración de la patogenidad de los anti-MPO, no hay evidencia suficiente acerca de la utilidad de su cuantificación en la monitorización de la enfermedad o para predecir recidivas (aunque en muchos casos resulte conveniente), puesto que la evolución de los títulos a menudo es paralela a la respuesta al tratamiento. Por ello, se considera recomendable controlar estrechamente a los pacientes en los que se observa un rápido incremento de anti-MPO o su reaparición tras un periodo de negatividad para detectar y tratar rápidamente los posibles brotes.

Los Ac anti-MPO también se presentan en el 30-40% de pacientes con síndrome de Goodpasture (reno-pulmonar) junto con los Ac anti-membrana basal glomerular (MBG), característicos de la enfermedad. Estos pacientes tienden a ser mayores y a responder mejor al tratamiento que los pacientes solo con Ac anti-MBG.

Utilidad clínica

Diagnóstico y monitorización de las vasculitis asociadas a ANCA (PAM, vasculitis renal, PAG y Churg-Strauss) y del síndrome de Goodpasture.

Descripción del método

Inmunoensayo de partículas direccionable por láser (*Addressable laser bead immunoassay, ALBIA*) utilizando como sustrato antigénico mieloperoxidasa. El resultado final se cuantifica por detección de

fluorescencia emitida. Para evaluar los resultados de la prueba, la respuesta de las muestras de los pacientes se compara directamente con la respuesta de los calibradores. Los resultados se expresan en U/mL.

La determinación de Ac anti-MPO, junto con la de ANCA, se incluye dentro del algoritmo establecido en sospecha de vasculitis (ver algoritmo).

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Positivos ≥ 1 U/mL

Interpretación de los resultados

La positividad para anti-MPO debe ser considerada según el contexto clínico:

- En vasculitis de vasos pequeños, su valor predictivo positivo es elevado (90%) dependiendo fundamentalmente de la sospecha e indicación clínica. Se presenta principalmente en PAM y la forma aislada renal.
- Un aumento en los títulos de anti-MPO no se correlaciona siempre con la actividad de la enfermedad pero, en estos casos, el paciente debe ser seguido para detectar y tratar los posibles brotes.
- En casos aislados, los Ac anti-MPO pueden presentar un patrón c-ANCA.
- Ocurren más frecuentemente resultados falsos positivos anti-MPO que anti-PR3.

Algoritmo diagnóstico

Sospecha clínica de vasculitis de vasos pequeños

Determinación de ANCA por IFI y anti-MPO/PR3 por ALBIA

Positivo

**c-ANCA y
anti-PR3**

Negativo

No vasculitis

VPN >90%

Positivo*

**p-ANCA y
anti-MPO**

Positivo*

**c-ANCA/p-ANCA Negativo
anti-MPO/PR3**

PAG>

Vasculitis renal>

PAM>

PAE (muy raro)

Vasculitis renal>

PAM>
PAE>
PAG
Otras patologías:
conectivopatías,
EII etc..
Confirmación por biopsia
Biopsia
compatible

SI
NO

Vasculitis**

* Descartar la presencia de Ac anti-nucleares (ANA)

** Poco frecuente

ALBIA: Inmunoensayo de partículas direccionable por láser;

IFI: Inmunofluorescencia indirecta;

PAE: poliangeítis eosinofílica (anteriormente síndrome de Churg-Strauss); PAG:

poliangeítis granulomatosa (anteriormente granulomatosis de Wegener); PAM: poliangeítis

microscópica; VPN: Valor predictivo negativo

Para el seguimiento de pacientes anti-MPO y/o PR3 positivos, no es necesario realizar los ANCA ya que la IFI es una técnica semicuantitativa.

Tiempo de respuesta

El tiempo de respuesta depende del resultado obtenido en el algoritmo diagnóstico:

- ANCA y anti-MPO Negativos: 5 días
- ANCA y/o anti-MPO Positivos: 10 días
- Seguimiento anti-MPO Positivos: 5 días

Petición urgente en sospecha de vasculitis: determinación de anti-MPO y anti-PR3 en el mismo día incluido sábado por la mañana.

Bibliografía

Savage J, Gillis D, Benson E, Davies D, Esnault V, Falk RJ et al. International Consensus on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). Am J Clin Pathol 1999;111:507-13.

Savage J, Dimech W, Fritzler M, Goeken J, Hagen EC, Jenette et al. International Group for Consensus Statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). Addendum to the International Consensus on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). Quality control guidelines, comments, and recommendations for testing in other autoimmune diseases. Am J Clin Pathol 2003;120:312-8.

Hellmich B, Flossmann O, Gross WL, Bacon P, Cohen-Tervaert JW, Guillevin L. et al. EULAR recommendations for conducting clinical studies and/or clinical trials in systemic vasculitis: focus on anti-neutrophil cytoplasm antibody-associated vasculitis. *Ann Rheum Dis* 2007;66:605-17.

Pagnoux C. Churg-Strauss syndrome: evolving concepts. *Discov Med* 2010;9:243-52.

Rutgers A, Slot M, van Paassen P, van Breda Vriesman P, Heeringa P, Tervaert JW. Coexistence of anti-glomerular basement membrane antibodies and myeloperoxidase-ANCAs in crescentic glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis* 2005;46:253-62.

ANTICUERPOS ANTI-PROTEINASA 3

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-proteinasa 3 (PR3) son un tipo de Ac anti-citoplasma de neutrófilos (ANCA). Su antígeno, la PR3, es un enzima que se encuentra en los gránulos azúrofilos de los neutrófilos, en los gránulos de los monocitos y en el citoplasma de células endoteliales. Su presencia, además de la Ac anti-mieloperoxidasa (MPO), es altamente específica de las vasculitis asociadas a ANCA (vasos pequeños). Por inmunofluorescencia indirecta (IFI), los Ac anti-PR3 presentan un patrón c-ANCA (citoplasmático) mientras que los anti-MPO se asocian generalmente con un patrón p-ANCA (perinuclear). La sensibilidad diagnóstica de estos autoAc es diferente en los distintos tipos de vasculitis (Tabla). La prevalencia de Ac anti-PR3 es mayor en la poliangeítis granulomatosa (PAG, anteriormente granulomatosis de Wegener). En esta patología, los pacientes con la forma limitada presentan una menor frecuencia de c-ANCA/PR3 que los que tienen la forma generalizada.

Patología	Sensibilidad ANCA por IFI	Especificidad antigénica ANCA
PAG sistémica	90%	PR3 65-90%/ MPO 10%
PAG localizada	60%	PR3 65-90%/ MPO 10%
PAM	70%	MPO 70%/ PR3 10%
Vasculitis renal	70%	MPO 70-90%/ PR3 10-30%
Churg-Strauss*	40%	MPO 50%

* También denominado granulomatosis alérgica

ANCA: anti-citoplasma de neutrófilo; IFI: Inmunofluorescencia indirecta; MPO: mieloperoxidasa; PAG: poliangeítis granulomatosa (anteriormente granulomatosis de Wegener); PAM: poliangeítis microscópica; PR3: proteinasa 3

En ausencia de biopsia confirmatoria, la European League Against Rheumatism (EULAR) admite establecer el diagnóstico de vasculitis ante la positividad c-ANCA/PR3 y p-ANCA/MPO en el contexto de un cuadro clínico compatible. A pesar de la demostración de la patogenicidad de los anti-PR3, no hay evidencia suficiente acerca de la utilidad de su cuantificación en la monitorización de la enfermedad o para predecir recidivas (aunque en muchos casos resulte conveniente), puesto que la evolución de los títulos a menudo es paralela a la respuesta al tratamiento. Por ello, se considera recomendable controlar estrechamente a los pacientes en los que se observa un rápido incremento de anti-PR3 o su reaparición tras un periodo de negatividad para detectar y tratar rápidamente los posibles brotes.

Utilidad clínica

Diagnóstico y monitorización de las vasculitis asociadas a ANCA, principalmente PAG (granulomatosis de Wegener).

Descripción del método

Inmunoensayo de partículas direccionable por láser (*Addressable laser bead immunoassay, ALBIA*) utilizando como sustrato antigénico proteinasa 3. El resultado final se cuantifica por detección de fluorescencia emitida. Para evaluar los resultados de la prueba, la respuesta de las muestras de los pacientes se compara directamente con la respuesta de los calibradores. Los resultados se expresan en U/mL.

La determinación de Ac anti-PR3, junto con la de ANCA, se incluye dentro del algoritmo establecido en sospecha de vasculitis (ver algoritmo).

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Positivos ≥ 1 U/mL

Interpretación de los resultados

La positividad para anti-PR3 debe ser considerada según el contexto clínico:

- En vasculitis de vasos pequeños, su valor predictivo positivo es elevado (90%) dependiendo fundamentalmente de la sospecha e indicación clínica. Se presenta principalmente en PAG (granulomatosis de Wegener).
- Un aumento en los títulos de anti-PR3 no se correlaciona siempre con la actividad de la enfermedad pero, en estos casos, el paciente debe ser seguido para detectar y tratar los posibles brotes.

Algoritmo diagnóstico

Sospecha clínica de vasculitis de vasos pequeños

Determinación de ANCA por IFI y
anti-MPO/PR3 por ALBIA

Positivo

c-ANCA y

anti-PR3

Negativo

No vasculitis

VPN >90%

Positivo*

p-ANCA y

anti-MPO

Positivo*

c-ANCA/p-ANCA Negativo

anti-MPO/PR3

PAG>

Vasculitis renal>

PAM>

PAE (muy raro)

Vasculitis renal>

PAM>

PAE>

PAG

Otras patologías:

conectivopatías,

EII etc..

Confirmación por biopsia

Biopsia

compatible

SI

NO

Vasculitis**

* Descartar la presencia de Ac anti-nucleares (ANA)

** Poco frecuente

ALBIA: Inmunoensayo de partículas direccionable por láser;

IFI: Inmunofluorescencia indirecta;

PAE: poliangeítis eosinofílica (anteriormente síndrome de Churg-Strauss); PAG:

poliangeítis granulomatosa (anteriormente granulomatosis de Wegener); PAM: poliangeítis

microscópica; VPN: Valor predictivo negativo

Para el seguimiento de pacientes anti-MPO y/o PR3 positivos, no es necesario realizar los ANCA ya que la IFI es una técnica semicuantitativa.

Tiempo de respuesta

El tiempo de respuesta depende del resultado obtenido en el algoritmo diagnóstico:

- ANCA y anti-PR3 Negativos: 5 días
- ANCA y/o anti-PR3 Positivos: 10 días
- Seguimiento anti-PR3 Positivos: 5 días

Petición urgente en sospecha de vasculitis: determinación de anti-MPO y anti-PR3 en el mismo día incluido sábado por la mañana.

Bibliografía

Savage J, Gillis D, Benson E, Davies D, Esnault V, Falk RJ et al. International Consensus on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). Am J Clin Pathol 1999;111:507-13.

Savage J, Dimech W, Fritzler M, Goeken J, Hagen EC, Jenette et al. International Group for Consensus Statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). Addendum to the International Consensus on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). Quality control guidelines, comments, and recommendations for testing in other autoimmune diseases. Am J Clin Pathol 2003;120:312-8.

Hellmich B, Flossmann O, Gross WL, Bacon P, Cohen-Tervaert JW, Guillevin L. et al. EULAR recommendations for conducting clinical studies and/or clinical trials in systemic vasculitis: focus on anti-neutrophil cytoplasm antibody-associated vasculitis. Ann Rheum Dis 2007;66:605-17.

ANTICUERPOS ANTI-MEMBRANA BASAL GLOMERULAR

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-membrana basal glomerular (MBG) se dirigen contra la cadena $\alpha 3$ del colágeno tipo IV. Son altamente específicos del síndrome de Goodpasture (SGP) (síndrome reno-pulmonar) por lo que también se denomina enfermedad por Ac anti-MBG. Se detectan raramente en pacientes solo con implicación pulmonar. La biopsia renal es el método diagnóstico de elección, junto con la demostración de Ac anti-MBG en sangre periférica. Dado que la progresión de la enfermedad suele ser muy rápida, la determinación de estos Ac previa a la biopsia permite un diagnóstico temprano imprescindible para instaurar lo antes posible el tratamiento. Estos Ac son patológicos por lo que la terapia de elección es la plasmaferesis.

La persistencia de los Ac anti-MBG se asocia con una mayor tasa de recidivas y se ha comprobado que sus títulos se correlacionan con la gravedad de la enfermedad renal. Además, la presencia de estos autoAc se considera un criterio de exclusión para el trasplante.

Aproximadamente un 30% de los pacientes con Ac anti-MBG presentan Ac anti-citoplasma de neutrófilo (ANCA) con especificidad anti-MPO. Por otra parte, la forma aislada renal de las vasculitis asociadas a ANCA es indistinguible del SGP sin afectación pulmonar. Por tanto, se recomienda la realización simultánea de ANCA y anti-MBG en pacientes con sospecha de SGP.

Utilidad clínica

Diagnóstico y monitorización del SGP.

Descripción del método

Inmunoensayo de partículas direccionable por láser (*Addressable laser bead immunoassay, ALBIA*) utilizando como sustrato antigénico la cadena $\alpha 3$ del colágeno tipo IV. El resultado final se cuantifica por detección de fluorescencia emitida. Para evaluar los resultados de la prueba, la respuesta de las muestras de los pacientes se compara directamente con la respuesta de los calibradores. Los resultados se expresan en U/mL.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Positivos ≥ 1 U/mL

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo es altamente específico del SGP. Por ensayo inmunoensayo (EIA, *enzyme immuno assay*) la sensibilidad de los anti-MBG en SGP con afectación renal es superior al 95% siendo la especificidad prácticamente del 100%.

Tiempo de respuesta

5 días

Petición urgente en sospecha de SGP/vasculitis: determinación de anti-MBG junto con anti-MPO y anti-PR3 en el mismo día incluido sábado por la mañana.

Bibliografía

Pusey CD. Anti-glomerular basement membrane disease. *Kidney Int* 2003;64:1535-50.

Rutgers A, Slot M, van Paassen P, van Breda Vriesman P, Heeringa P, Tervaert JW. Coexistence of anti-glomerular basement membrane antibodies and myeloperoxidase-ANCAs in crescentic glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis* 2005;46:253-62.

ANTICUERPOS ANTI-MITOCONDRIALES

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-mitocondriales (AMA) se dirigen contra distintos componentes del complejo de las oxoácido deshidrogenasas fundamentalmente contra las subunidades E2 también conocidas como antígeno mitocondrial 2 (M2). Son marcadores serológicos de la colangitis biliar primaria (CBP) estando incluidos en los criterios diagnósticos. Pueden aparecer con bastante antelación al inicio del cuadro clínico: hasta un 40% de pacientes con AMA asintomáticos y con fosfatasa alcalina normal tienen lesiones histológicas de CBP. Los títulos de los AMA no se correlacionan con la severidad de la enfermedad y no suelen variar de manera significativa con la evolución.

Utilidad clínica

Diagnóstico de CBP

Descripción del método

Inmunofluorescencia indirecta (IFI) utilizando como sustrato hígado, estómago y riñón de rata (triple tejido). El resultado final se obtiene por observación al microscopio de la presencia o ausencia del patrón de fluorescencia M2 característico de los AMA asociados a CBP. Es una técnica semi-cuantitativa en la que la titulación de los ANA se realiza mediante diluciones seriadas.

Mediante la técnica de IFI, se identifican simultáneamente los patrones correspondientes a Ac anti-músculo liso (AML) y anti-mitosomas de hígado y riñón tipo 1 (LKM-1).

En casos de patrón de fluorescencia dudoso, se confirma la reactividad anti-M2 mediante inmunoblot. En esta técnica, el antígeno M2 junto con otros asociados a hepatopatías autoinmunes (LKM-1, F-actina, SLA y LC-1) se encuentran separados en una tira. La señal de reacción que permite la identificación individual de los autoAc se obtiene mediante reacción enzimática que se interpreta visualmente.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Positivos $\geq 1/40$

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo ($\geq 1/40$) es altamente específico de CBP.

Se informa también el resultado para AML y LKM-1 ya que se determinan en la misma prueba.

Tiempo de respuesta

5 días en caso de resultado negativo.

10 días en caso de resultado positivo.

Bibliografía

Bogdanos DP, Invernizzi P, Mackay IR, Vergani D. Autoimmune liver serology: Current diagnosis and clinical challenges. *World J Gastroenterol* 2008;14:3374-87.

Lindor KD, Gershwin ME, Poupon R, Kaplan M, Bergasa NV, Heathcote EJ. American Association for study of liver diseases. Primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2009;50:291-308.

Kisand KE, Metsküla K, Kisand KV, Kivik T, Gershwin ME, Uibo R. The follow-up of asymptomatic persons with antibodies to pyruvate dehydrogenase in adult population samples. *J Gastroenterol* 2001;36:248-54.

ANTICUERPOS ANTI-MUSCULO LISO

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-músculo liso (AML, ASMA del inglés *smooth muscle antibodies*) se asocian con hepatitis autoinmune (HAI). Su diagnóstico requiere la exclusión de otras causas de daño hepático y se basa en una combinación de criterios establecidos por el International Autoimmune Hepatitis Group, entre los que se encuentra los AML. Se ha propuesto la clasificación de HAI en dos tipos atendiendo al tipo de autoAc y aspectos clínicopatológicos. La HAI tipo 1 se caracteriza por la presencia de Ac anti-nucleares (ANA) y/o AML. En la HAI tipo 2, aparecen Ac anti-mitosomas de hígado y riñón (LKM, del inglés *liver kidney microsomes*) y/o Ac anti-citosol hepático tipo 1 (LC-1).

En la HAI tipo 1, los ANA aparecen en el 60% de los casos, aunque son de baja especificidad y escaso valor predictivo positivo (VPP). Los AML presentan una sensibilidad y especificidad de aproximadamente 75%, valor predictivo negativo (VPN) superior al 90% y VPP del 40%.

El principal antígeno de los AML en la HAI es la F-actina. Su título no se correlaciona con el pronóstico y suelen desaparecer con el tratamiento inmunosupresor. Se pueden encontrar títulos bajos de AML en el 30-40% de las hepatitis virales así como en procesos infecciosos e inflamatorios.

Utilidad clínica

Diagnóstico y monitorización de HAI.

Descripción del método

Inmunofluorescencia indirecta (IFI) utilizando como sustrato hígado, estómago y riñón de rata (triple tejido). El resultado final se obtiene por observación al microscopio de la presencia o ausencia del patrón de fluorescencia característico de los AML. Es una técnica semi-cuantitativa en la que la titulación de los ANA se realiza mediante diluciones seriadas.

Mediante la técnica de IFI, se identifican simultáneamente los patrones correspondientes a Ac anti-mitosomiales (AMA) y anti-mitosomas de hígado y riñón tipo 1 (LKM-1).

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Positivos $\geq 1/80$

Se informa también el resultado para AMA y LKM-1 ya que se determinan en la misma prueba.

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo de AML a título medio-alto ($\geq 1/320$) es indicativo de HAI, en mayor medida, cuando hay presencia simultánea de ANA. Títulos bajos (1/80-1/160) de AML pueden estar relacionados con otro tipo de procesos inflamatorios y hepatitis víricas.

Tiempo de respuesta

5 días en caso de resultado negativo.

10 días en caso de resultado positivo.

Bibliografía

Manns MP, Czaja, Gorham JD, Krawitt EL, Mieli-Vergani G, Vergani D et al. American Association for the study of liver diseases. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2010;51:2193-213.

Czaja Aj. Autoantibodies as prognostic markers in autoimmune liver disease. *Dig Dis Sci* 2010;55:2144-61.

Hennes EM, Zeniya M, Czaja AJ, Parés A, Dalekos GN, Krawitt EL et al. International Autoimmune Hepatitis Group. Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2008;48:169-76.

ANTICUERPOS ANTI-MICROSOMAS DE HIGADO Y RIÑÓN (LKM-1)

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-microsomas de hígado y riñón (LKM-1, del inglés *liver kidney microsomes*) se asocian con hepatitis autoinmune (HAI). Su diagnóstico requiere la exclusión de otras causas de daño hepático y se basa en una combinación de criterios establecidos por el International Autoimmune Hepatitis Group, entre los que se encuentra los Ac anti-LKM-1. Se ha propuesto la clasificación de HAI en dos tipos atendiendo al tipo de autoAc y aspectos clínicopatológicos. La HAI tipo 1 se caracteriza por la presencia de Ac anti-nucleares (ANA) y/o anti-músculo liso (AML). En la HAI tipo 2, aparecen los Ac antiLKM-1 y/o Ac anti-citosol hepático tipo 1 (LC-1).

El antígeno de los anti-LKM-1 es el citocromo P450 2D6, enzima que interviene en la metabolización de drogas en el hígado. Estos autoAc aparecen en el 80-90% de HAI tipo 2 y tienen especificidad y valores predictivos elevados. Sin embargo, pueden aparecer hasta en un 5% de pacientes con hepatitis C sin evidencias de HAI. Los títulos de Ac no se correlacionan con la evolución de la enfermedad.

Utilidad clínica

Diagnóstico de HAI.

Descripción del método

Inmunofluorescencia indirecta (IFI) utilizando como sustrato hígado, estómago y riñón de rata (triple tejido). El resultado se obtiene por observación al microscopio de la presencia o ausencia del patrón de fluorescencia característico de los anti-LKM-1. Es una técnica semi-cuantitativa en la que la titulación de los ANA se realiza mediante diluciones seriadas.

Mediante la técnica de IFI, se identifican simultáneamente los patrones correspondientes a Ac anti-mitocondriales (AMA) y AML.

Se confirma la presencia de Ac anti-LKM-1 al diagnóstico mediante inmunoblot. En esta técnica, el antígeno LKM-1 (P450 2D6) junto con otros asociados a hepatopatías autoinmunes (M2, F-actina, SLA y LC-1) se encuentran separados en una tira. La señal de reacción que permite la identificación individual de los autoAc se obtiene mediante reacción enzimática que se interpreta visualmente.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Positivos $\geq 1/40$

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo de Ac anti-LKM-1, incluso a títulos bajos, es altamente indicativo de HAI.

Se informa también el resultado para AMA y AML ya que se determinan en la misma prueba.

Tiempo de respuesta

5 días en caso de resultado negativo.

10 días en caso de resultado positivo.

Bibliografía

Manns MP, Czaja, Gorham JD, Krawitt EL, Mieli-Vergani G, Vergani D et al. American Association for the study of liver diseases. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis. Hepatology 2010;51:2193-213.

Czaja Aj. Autoantibodies as prognostic markers in autoimmune liver disease. Dig Dis Sci 2010;55:2144-61.

Hennes EM, Zeniya M, Czaja AJ, Parés A, Dalekos GN, Krawitt EL et al. International Autoimmune Hepatitis Group. Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2008;48:169-76.

ANTICUERPOS ANTI-MITOCONDRIALES M2

Información clínica

Se denomina antígeno M2 al conjunto de los antígenos que reconocen los Ac anti-mitocondriales (AMA) marcadores diagnósticos de colangitis biliar primaria (CBP). Estos antígenos son miembros del complejo enzimático de las 2-oxoácido deshidrogenasas incluido dentro de la cadena respiratoria mitocondrial. Dentro de este complejo, la principal diana antigénica es la subunidad E2 del complejo piruvato deshidrogenasa (PDH) que es reconocida por el 80-90% de sueros de pacientes con CBP. Las subunidades E2 del complejo oxoácido deshidrogenasa de cadena ramificada (BCOADH) y del complejo oxoglutarato deshidrogenasa (OGDH) también son reconocidas por un número elevado de pacientes (60% y 30-80%, respectivamente).

Los Ac anti-M2 pueden aparecer con bastante antelación al inicio del cuadro clínico: hasta un 40% de pacientes con anti-M2 asintomáticos y con fosfatasa alcalina normal tienen lesiones histológicas de CBP.

Utilidad clínica

Diagnóstico de CBP

Descripción del método

Inmunoblot en el que el antígeno M2 (E2-PDH+E2-BCOADH+E2-OGDH) y otros asociados a hepatopatías autoinmunes (LKM-1, F-actina, SLA, LC-1, gp210 y Sp100) se encuentran separados en una tira. La señal de reacción que permite la identificación individual de los autoAc se obtiene mediante reacción enzimática que se interpreta visualmente.

Algoritmo diagnóstico

Esta determinación solo se realiza en casos de duda en la determinación de AMA por inmunofluorescencia indirecta (IFI), en sospecha elevada de CBP con AMA por IFI negativos o cuando se detectan AMA durante la determinación de Ac anti-nucleares (ANA) sin solicitud previa.

DETERMINACION DE AMA POR IFI

Negativo

Determinación anti-M2 por inmunoblot

Sospecha

elevada

CBP

Patrón compatible

con AMA

DETERMINACION DE ANA POR IFI

SIN SOLICITUD DE AMA

AMA: anticuerpos anti-mitocondriales; ANA: anticuerpos anti-nucleares; CBP: colangitis biliar primaria;

IFI: Inmunofluorescencia indirecta; M2: antígeno mitocondrial 2

Positivo

Dudoso

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero. (Contenedor): Tubo de tapón rojo

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo es altamente específico de CBP.

Tiempo de respuesta

10 días.

Bibliografía

Bogdanos DP, Invernizzi P, Mackay IR, Vergani D. Autoimmune liver serology: Current diagnosis and clinical challenges. *World J Gastroenterol* 2008;14:3374-87.

Lindor KD, Gershwin ME, Poupon R, Kaplan M, Bergasa NV, Heathcote EJ. American Association for study of liver diseases. Primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2009;50:291-308.

KIsand KE, Metsküla K, Kisand KV, Kivik T, Gershwin ME, Uibo R. The follow-up of asymptomatic persons with antibodies to pyruvate dehydrogenase in adult population samples. *J Gastroenterol* 2001;36:248-54.

ANTICUERPOS ANTI-CITOCROMO P450 2D6

Información clínica

El citocromo p450 2D6, enzima que interviene en la metabolización de drogas en el hígado, es el antígeno de los anticuerpos (Ac) anti-mitosomas de hígado y riñón (LKM-1, del inglés *liver kidney microsomes*) marcadores diagnósticos de hepatitis autoinmune (HAI) tipo 2. Estos autoAc aparecen en el 80-90% de HAI tipo 2 y tienen especificidad y valores predictivos elevados. Sin embargo, pueden aparecer hasta en un 5% de pacientes con hepatitis C sin evidencias de HAI.

Además de los Ac anti-LKM-1, se han descrito otros Ac anti-mitosomas de hígado y riñón (LKM-2, LKM-3 y LM) generalmente asociados a hepatitis inducida por drogas. Estos autoAc pueden presentar un patrón similar a los LKM-1 por inmunofluorescencia indirecta (IFI).

Utilidad clínica

Diagnóstico de HAI.

Descripción del método

Inmunoblot en el que el antígeno LKM-1 (p450 2D6) y otros asociados a hepatopatías autoinmunes (M2, F-actina, SLA, LC-1, gp210 y Sp100) se encuentran separados en una tira. La señal de reacción que permite la identificación individual de los autoAc se obtiene mediante reacción enzimática que se interpreta visualmente.

Algoritmo diagnóstico

La realización de esta determinación depende de los resultados obtenidos en la determinación de Ac anti-LKM-1 por IFI. Se realiza en:

- pacientes en los que se ha detectado por primera vez la presencia de Ac anti-LKM-1.
- patrones de fluorescencia dudosos para discriminar los diferentes tipos de Ac anti-LKM no asociados a HAI.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero. (Contenedor): Tubo de tapón rojo

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo de Ac anti-LKM-1 (p450 2D6) es altamente indicativo de HAI.

Tiempo de respuesta

10 días.

Bibliografía

Manns MP, Czaja, Gorham JD, Krawitt EL, Mieli-Vergani G, Vergani D et al. American Association for the study of liver diseases. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2010;51:2193-213.

Czaja Aj. Autoantibodies as prognostic markers in autoimmune liver disease. *Dig Dis Sci* 2010;55:2144-61.

Hennes EM, Zeniya M, Czaja AJ, Parés A, Dalekos GN, Krawitt EL et al. International Autoimmune Hepatitis Group. Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2008;48:169-76.

ANTICUERPOS ANTI-ANTIGENO SOLUBLE HEPATICO (SLA)/ANTIGENO DE HIGADO PANCREAS (LP)

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-antígeno soluble hepático (SLA, del inglés *soluble liver antigen*) y anti-antígeno de hígado y páncreas (LP, del inglés *liver pancreas*) fueron originalmente descritos como dos Ac diferentes asociados a hepatitis autoinmune (HAI). Posteriormente, se comprobó que su diana antigénica era la misma: una ribonucleoproteína de transferencia (tRNP (Ser) Sec). Estos autoAc se encuentran ocasionalmente en pacientes con HAI negativos para los marcadores convencionales: anti-nucleares (ANA), anti-músculo liso (AML) y anti-mitosomas de hígado y riñón tipo 1 (LKM-1). Sin embargo, son más frecuentes cuando estos marcadores están presentes. Los Ac anti-SLA son muy específicos de HAI (>95%), tienen valores predictivos entre el 75-90% pero son de baja sensibilidad (10-30%). Distintos trabajos apuntan a que su detección permite identificar pacientes con enfermedad más severa y peor pronóstico.

Utilidad clínica

Diagnóstico de HAI.

Descripción del método

Inmunoblot en el que el antígeno SLA y otros asociados a hepatopatías autoinmunes (M2, LKM-1, F-actina, LC-1, gp210 y Sp100) se encuentran separados en una tira. La señal de reacción que permite la identificación individual de los autoAc se obtiene mediante reacción enzimática que se interpreta visualmente.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero. (Contenedor): Tubo de tapón rojo

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo para Ac anti-SLA es altamente específico de HAI.

Se informa también el resultado para los Ac anti-citosol hepático tipo 1 (LC1, del inglés *liver cytosol type 1*) ya que se detectan simultáneamente y son otros marcadores no convencionales de HAI.

Tiempo de respuesta

10 días.

Bibliografía

Manns MP, Czaja, Gorham JD, Krawitt EL, Mieli-Vergani G, Vergani D et al. American Association for the study of liver diseases. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2010;51:2193-213.

Czaja Aj. Autoantibodies as prognostic markers in autoimmune liver disease. *Dig Dis Sci* 2010;55:2144-61.

Ma Y, Okamoto M, Thomas MG, Bogdanos DP, Lopes AR, Portmann B et al. Antibodies to conformational epitopes of soluble liver antigen define a severe form of autoimmune liver disease. *Hepatology* 2002;35:658-664.

ANTICUERPOS ANTI-CITOSOL HEPATICO TIPO 1 (LC1)

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-citosol hepático (LC1, del inglés liver cytosol type 1) son específicos de hepatitis autoinmune (HAI). Su antígeno es ciclodeaminasa formiminotransferasa. Los Ac anti-LC1 se presentan generalmente con Ac anti-LKM-1, detectándose hasta en el 50% de pacientes con HAI tipo 2. Sin embargo, puede ser el único marcador presente en 10% de los pacientes con HAI. Contrariamente a la mayoría de los Ac asociados a HAI, los anti-LC1 parecen correlacionarse con la actividad de la enfermedad.

Utilidad clínica

Diagnóstico de HAI.

Descripción del método

Inmunoblot en el que el antígeno LC1 y otros asociados a hepatopatías autoinmunes (M2, LKM-1, F-actina, SLA-1, gp210 y Sp100) se encuentran separados en una tira. La señal de reacción que permite la identificación individual de los autoAc se obtiene mediante reacción enzimática que se interpreta visualmente.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero. (Contenedor): Tubo de tapón rojo

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo para Ac anti-LC1 es altamente específico de HAI.

Se informa también el resultado para los Ac anti-antígeno soluble hepático (SLA) ya que se detectan simultáneamente y son otros marcadores no convencionales de HAI.

Tiempo de respuesta

10 días.

Bibliografía

Abuaf N, Johanet C, Chretien P, Martini E, Soulier E, Laperche S et al. Characterization of the liver cytosol antigen type 1 reacting with autoantibodies in chronic active hepatitis. *Hepatology* 1992;16:892-898.

Manns MP, Czaja, Gorham JD, Krawitt EL, Mieli-Vergani G, Vergani D et al. American Association for the study of liver diseases. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2010;51:2193-213.

Czaja Aj. Autoantibodies as prognostic markers in autoimmune liver disease. *Dig Dis Sci* 2010;55:2144-61.

ANTICUERPOS ANTI-gp210

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-gp210 son un marcador biológico de la colangitis biliar primaria (CBP) ya que son específicos de la enfermedad asociándose con un peor pronóstico. Se dirigen contra la glicoproteína gp210 integrada en la membrana nuclear. Se presentan generalmente junto con los Ac anti-mitocondriales aunque, menos frecuentemente, se pueden presentar de forma aislada. Su sensibilidad en CBP es baja (30%) mientras que su especificidad es elevada (98%).

Estos autoAc pueden ser detectados por inmunofluorescencia indirecta (IFI) al solicitar Ac anti-nucleares (ANA) y anti-mitocondriales (AMA). Presentan un patrón de fluorescencia anti-membrana nuclear correspondiente a la localización del autoantígeno gp210.

Utilidad clínica

Diagnóstico de CBP.

Descripción del método

Inmunoblot en el que el antígeno gp210 y otros asociados a hepatopatías autoinmunes (M2, LKM-1, F-actina, SLA-1, LC-1 y Sp100) se encuentran separados en una tira. La señal de reacción que permite la identificación individual de los autoAc se obtiene mediante reacción enzimática que se interpreta visualmente.

Algoritmo diagnóstico

Esta determinación se realiza únicamente en caso de observar por IFI un patrón compatible con Ac anti-gp210.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo para Ac anti-gp210 es altamente específico de CBP incluso en ausencia de AMA.

Tiempo de respuesta

10 días.

Bibliografía

Shi-Ling H, Feng-Rong Z, Qin H and Wie-Xian Ch. Meta-Analysis Assessment of GP210 and SP100 for the Diagnosis of Primary Biliary Cirrhosis. PLoS One 2014;9:e101916

Zhang Q, Liu Z, Wu S, Duan W, Chen S, Ou X et al. Meta-Analysis of Antinuclear Antibodies in the Diagnosis of Antimitochondrial Antibody-Negative Primary Biliary Cholangitis. Gastroenterol Res Pract 2019; 8959103. doi: 10.1155/2019/8959103.

ANTICUERPOS ANTI-Sp100

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-Sp100 se detectan en $\approx 25\%$ de los pacientes con colangitis biliar primaria (CBP) aunque no son específicos de la enfermedad ya que pueden presentarse en otras patologías autoinmunes principalmente enfermedades autoinmunes sistémicas y hepatitis autoinmune. En CBP, se detectan generalmente junto con los Ac anti-mitocondriales aunque, menos frecuentemente, se pueden presentar de forma aislada.

Estos autoAc pueden ser detectados por inmunofluorescencia indirecta (IFI) al solicitar Ac anti-nucleares (ANA) y/o anti-mitocondriales (AMA). Presentan un patrón de fluorescencia correspondiente a múltiples puntos nucleares (MND, *multiple nuclear dots*).

Utilidad clínica

Diagnóstico de CBP y otras patología autoinmunes.

Descripción del método

Inmunoblot en el que el antígeno Sp100 y otros asociados a hepatopatías autoinmunes (M2, LKM-1, F-actina, SLA-1, LC-1 y gp210) se encuentran separados en una tira. La señal de reacción que permite la identificación individual de los autoAc se obtiene mediante reacción enzimática que se interpreta visualmente.

Algoritmo diagnóstico

Esta determinación se realiza únicamente en caso de observar por IFI un patrón compatible con Ac anti-Sp100.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Interpretación de los resultados

La presencia de Ac anti-Sp100 no es específica de ninguna patología. Sin embargo, en casos de sospecha de CBP, su detección es altamente sugestiva de dicha enfermedad incluso en ausencia de AMA.

Tiempo de respuesta

10 días.

Bibliografía

Shi-Ling H, Feng-Rong Z, Qin H and Wie-Xian Ch. Meta-Analysis Assessment of GP210 and SP100 for the Diagnosis of Primary Biliary Cirrhosis. PLoS One 2014;9:e101916

Zhang Q, Liu Z, Wu S, Duan W, Chen S, Ou X et al. Meta-Analysis of Antinuclear Antibodies in the Diagnosis of Antimitochondrial Antibody-Negative Primary Biliary Cholangitis. Gastroenterol Res Pract 2019; 8959103. doi: 10.1155/2019/8959103.

Wichmann I, Montes-Cano MA, Respaldiza N, Alvarez A, Walter K, Franco et al. Clinical significance of anti-multiple nuclear dots/Sp100 autoantibodies. Scand J Gastroenterol 2003;38:996-9

ANTICUERPOS ANTI-CELULAS PARIETALES GASTRICAS

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-células parietales gástricas (CPG) se asocian con la gastritis crónica autoinmune o gastritis atrófica tipo A. Su antígeno es la enzima ATPasa H⁺K⁺ responsable de la acidificación del jugo gástrico. Los Ac anti-CPG dirigidos contra esta bomba de protones son marcadores diagnóstico de la gastritis crónica autoinmune, presentando una sensibilidad (80%) y especificidad elevada. La prevalencia de estos autoAc aumenta con la edad y se asocian con hipergastrinemia. Estudios histológicos de las biopsias gástricas muestran que la mayoría de pacientes con Ac anti-CPG tienen lesiones típicas de gastritis atrófica tipo A.

La anemia perniciosa es la causa más común de déficit de vitamina B12 en las poblaciones de países desarrollados. Estudios longitudinales sugieren que la anemia perniciosa es la fase final de la gastritis crónica autoinmune con Ac anti-CPG ya que esta patología puede permanecer silente y preceder a las manifestaciones clínicas de la anemia perniciosa durante 20-30 años. De hecho, los Ac anti-CPG se detectan en el 90% de los pacientes con anemia perniciosa.

También se pueden presentar en el 30% de otras enfermedades autoinmunes órgano específicas como la tiroiditis autoinmune y la diabetes mellitus tipo 1 (DM1), como parte de un síndrome pluriglandular autoinmune.

Utilidad clínica

Diagnóstico de gastritis autoinmune y anemia perniciosa.

Descripción del método

Enzimoimmunoensayo en placa (ELISA, *enzyme linked immunosorbent assay*) utilizando como sustrato antigénico ATPase H⁺K⁺ de cerdo. El resultado final se cuantifica por lectura de la señal del producto final de la reacción enzimática. Para evaluar los resultados de la prueba, la respuesta de las muestras de los pacientes se compara directamente con la respuesta de los calibradores. No hay un estándar internacional para Ac anti-CPG. Los resultados se expresan en UA/mL.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Positivos > 15 UA/mL

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo apoya fuertemente el diagnóstico de gastritis crónica autoinmune.

Tiempo de respuesta

15 días

Bibliografía

Hershko C, Ronson A, Souroujon M, Maschler I, Heyd J, Patz J. Variable hematologic presentation of autoimmune gastritis: age-related progression from iron deficiency to cobalamin depletion. *Blood* 2006;107:1673-9.

Lahner E, Norman GL, Severi C, Encabo S, Shums Z, Vanella L et al. Reassessment of intrinsic factor and parietal cell autoantibodies in atrophic gastritis with respect to cobalamin deficiency. *Am J Gastroenterol* 2009;62:439-41.

Toh BH, Chan J, Kyaw T, Alderuccio F. Cutting edge issues in autoimmune gastritis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2012;42:269-78.

ANTICUERPOS ANTI-FACTOR INTRINSECO

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-factor intrínseco (FI) se asocian con la gastritis crónica autoinmune o gastritis atrófica tipo A y la anemia perniciosa. Existen dos tipos de Ac anti-FI. Los de tipo I bloquean el sitio de unión de la vitamina B12 al FI mientras que los de tipo II bloquean un sitio diferente del FI que está implicado en la unión del complejo FI-vitamina B12 a los receptores ileales. Los dos tipos de Ac tienen el mismo efecto patológico: impedir la absorción de vitamina B12.

La anemia perniciosa es la causa más común de déficit de vitamina B12 en las poblaciones de países desarrollados. Estudios longitudinales sugieren que la anemia perniciosa es la fase final de la gastritis crónica autoinmune con Ac anti-CPG ya que esta patología puede permanecer silente y preceder a las manifestaciones clínicas de la anemia perniciosa durante 20-30 años.

En pacientes con gastritis crónica autoinmune confirmada por biopsia la sensibilidad de los Ac anti-FI es de aproximadamente el 30% y la especificidad del 100%. En los casos en los que anemia perniciosa ya está establecida, la sensibilidad aumenta hasta el 50-70%. Es infrecuente detectar Ac anti-FI en pacientes que no presentan Ac anti-células parietales gástricas (CPG). En casos de sospecha de anemia perniciosa, se recomienda determinar simultáneamente los Ac anti-FI y anti-CPG.

Utilidad clínica

Diagnóstico de anemia perniciosa.

Descripción del método

Enzimoinmunoensayo en placa (ELISA, *enzyme linked immunosorbent assay*) utilizando como sustrato antigénico FI recombinante. El resultado final se cuantifica por lectura de la señal del producto final de la reacción enzimática. Para evaluar los resultados de la prueba, la respuesta de las muestras de los pacientes se compara directamente con la respuesta de los calibradores. No hay un estándar internacional para Ac anti-FI. Los resultados se expresan en UA/mL.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Positivos > 10 UA/mL

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo para Ac anti-FI junto con la presencia de Ac anti-CPG apoya fuertemente el diagnóstico de anemia perniciosa.

Tiempo de respuesta

15 días

Bibliografía

Hershko C, Ronson A, Souroujon M, Maschler I, Heyd J, Patz J. Variable hematologic presentation of autoimmune gastritis: age-related progression from iron deficiency to cobalamin depletion. *Blood* 2006;107:1673-9.

Lahner E, Norman GL, Severi C, Encabo S, Shums Z, Vanella L et al. Reassessment of intrinsic factor and parietal cell autoantibodies in atrophic gastritis with respect to cobalamin deficiency. *Am J Gastroenterol* 2009;62:439-41.

Khan S, Del-Duca C, Fenton E, Holding S, Hirst J, Doré Pc, Sewell WA. Limited value of testing for intrinsic factor antibodies with negative gastric parietal cell antibodies in pernicious anaemia. *J Clin Pathol* 2009;62:439-41.

Lahner E, Annibale B. Pernicious anemia: new insights from a gastroenterological point of view. *World J Gastroenterol* 2009;15:5121-8.

ANTICUERPOS ANTI-SACCHAROMYCES CERIVISIAE (ASCA)

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) reconocen secuencias de residuos oligomanosídicos la levadura *S. cerevisiae*. Su presencia se ha asociado con la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), especialmente, con la enfermedad de Crohn (ECr). Junto con los Ac anti-citoplasma de neutrófilo (ANCA) son los Ac más utilizados en el diagnóstico serológico de la EII. La determinación combinada de estos dos Ac es de utilidad en el diagnóstico diferencial de la EII ya que la colitis ulcerosa (CU) y enfermedad de Crohn (ECr) se asocian con un patrón opuesto de ANCA/ASCA. Los pacientes con ECr presentan una frecuencia más elevada de ASCA y más baja de ANCA con patrón perinuclear (p-ANCA) que los pacientes con CU. La especificidad de esta combinación es muy elevada (95-99%) sin embargo la sensibilidad es menor (60%).

La determinación combinada de ASCA y p-ANCA también es de utilidad en los casos de colitis indeterminada. El patrón p-ANCA-/ASCA+ predice la evolución de CI a ECr en el 80% de los pacientes y si el patrón es p-ANCA+/ASCA- el 65% de los pacientes evolucionarían a CU.

En ECr, la presencia de ASCA se ha relacionado con un curso más agresivo de la enfermedad ya que pacientes con enfermedad fistulizante-perforante y necesidad de cirugía presentan niveles elevados de estos Ac.

La determinación de estos Ac durante el curso de la enfermedad no tiene valor clínico.

Utilidad clínica

Diagnóstico diferencial de CU y ECr (junto con la determinación de ANCA).

Descripción del método

Enzimoinmunoensayo en placa (ELISA, *enzyme linked immunosorbent assay*) utilizando como polisacárido manano altamente purificado de *S. cerevisiae*. Se determinan Ac de isotipo IgA. El resultado final se cuantifica por lectura de la señal del producto final de la reacción enzimática. Para evaluar los resultados de la prueba, la respuesta de las muestras de los pacientes se compara directamente con la respuesta de los calibradores. No hay un estándar internacional para ASCA. Los resultados se expresan en unidades arbitrarias (UA)/mL.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Positivo > 10 UA/mL.

Interpretación de los resultados

En EII, un resultado ANCA positivo y ASCA negativo apoya el diagnóstico de CU mientras que el patrón contrario (ANCA negativo y ASCA positivo) sugiere el de ECr.

Tiempo de respuesta

21 días

Bibliografía

Schoepfer AM, Trummel M, Seeholzer P, Seibold-Schmid B, Seibold F. Discriminating IBD from IBS: Comparison of the test performance of fecal markers, blood leukocytes, CRO, and IBD antibodies. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14:32-9.

Joossens S, Reinisch W, Vermeire S, Sendid B, Poulain D, Peeters M et al. The value of serologic markers in indeterminate colitis: a prospective follow-up study. *Gastroenterology* 2002;122:1242-7.

Papp M, Altörjay I, Dotan N, Palatka K, Foldi I, Tumpek J et al. New serological markers for inflammatory bowel disease are associated with earlier age at onset, complicated disease behavior, risk for surgery, and NOD2/CARD15 genotype in an Hungarian IBD cohort. *Am J gastroenterol* 2008;103:665-81.

ANTICUERPOS ANTI-TRANSGLUTAMINASA IgA

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-transglutaminasa tisular (tTG) son específicos de la enfermedad celíaca (EC). Otros Ac asociados con la EC son los Ac anti-endomisio (EMA) que también reconocen la tTG pero se detectan por una técnica diferente y los anti-gliadina (AGA). Los dos principales antígenos de la EC se relacionan funcionalmente ya que la tTG es un enzima que modifica post-traduccionally la gliadina por deamidación. Actualmente, se recomienda la sustitución de los AGA por los anti-dGp debido a su mayor sensibilidad y especificidad. La EC presenta una alta asociación con el sistema de antígenos leucocitarios humanos (HLA) ya que el 90% de los pacientes son positivos para DQ2. De los pacientes DQ2 negativos, aproximadamente la mitad son DQ8.

Los Ac anti-tTG de isotipo IgA presentan una elevada sensibilidad y especificidad para la EC (aproximadamente, 95%). Sin embargo, su sensibilidad en niños menores de 2 años es más reducida.

Los niveles de los Ac asociados a EC, incluidos los anti-tTG IgA, se correlacionan inversamente con la edad ya que los niños menores de 5 años presentan niveles más elevados que niños mayores y adultos. Además, existe una correlación directa de los niveles de Ac con el grado de lesión histológica.

Hasta ahora, independientemente de la edad, el diagnóstico final de la EC se basaba en la demostración de lesión histológica en la biopsia duodenal. Sin embargo, la European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGAHN) ha establecido en 2012 nuevos criterios para el diagnóstico de la enfermedad celíaca en niños y adolescentes que dan mayor importancia a los marcadores serológicos y el tipaje HLA para evitar la biopsia (ver algoritmo diagnóstico).

La determinación de los Ac anti-tTG IgA es útil para la monitorización de la EC ya que sus niveles disminuyen al desaparecer el gluten de la dieta.

Los pacientes con EC presentan una prevalencia de déficit de IgA mayor que la población normal por lo que se recomienda cuantificar los niveles de esta Ig. En caso de déficit, es necesario determinar los Ac anti-tTG de isotipo IgG.

Además, la EC se asocia frecuentemente con otras enfermedades autoinmunes organoespecíficas. Entre ellas, la más frecuente es la diabetes mellitus tipo 1 ya que el 10-15% de estos pacientes tienen EC.

Utilidad clínica

Diagnóstico y monitorización de la EC.

Descripción del método

Inmunoensayo de partículas direccionable por láser (*Addressable laser bead immunoassay, ALBIA*) utilizando como sustrato antigénico transglutaminasa. El resultado final se cuantifica por detección de fluorescencia emitida. Para evaluar los resultados de la prueba, la respuesta de las muestras de los pacientes se compara directamente con la respuesta de los calibradores. Los resultados se expresan en U/mL.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Positivo ≥ 15 U/mL

Interpretación de los resultados

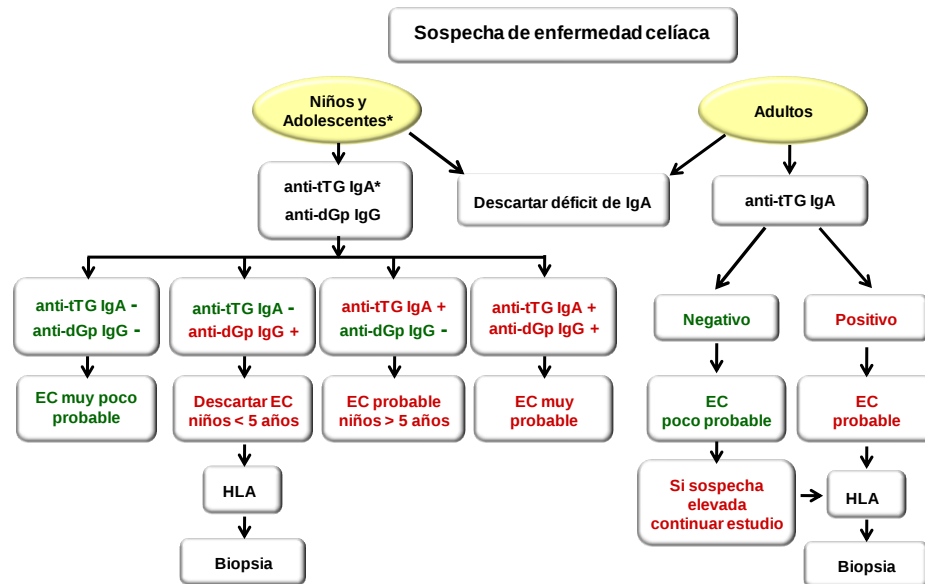
Un resultado positivo, apoya fuertemente el diagnóstico de EC.

En niños y adolescentes, se realiza simultáneamente la determinación de Ac anti-dGp IgG. En estos casos, un resultado positivo para ambos Ac es claramente indicativo de EC (ver algoritmo 1). Se realiza la determinación de EMA en caso de anti-tTG IgA positivo (ver algoritmo 2).

El seguimiento de una dieta sin gluten se asocia con la disminución de Ac anti-tTG IgA.

Algoritmo diagnóstico

Algoritmo 1 El algoritmo para la determinación de marcadores en el diagnóstico serológico de la EC es distinto en niños/adolescentes y en adultos.



* Seguir los criterios ESPAGHAN 2012 respecto a los niveles de Ac anti-tTG IgA

EC: enfermedad celíaca; dGp: péptido deamidado de gliadina; HLA: antígeno leucocitario Humano; tTG: transglutaminasa tisular;

Algoritmo 2 En niños y adolescentes, el diagnóstico de enfermedad celíaca se puede establecer sin realizar la biopsia teniendo en cuenta los niveles de anti-tTG IgA según el algoritmo propuesto por la ESPAGHAN.

Tiempo de respuesta

5 días

Bibliográfia

- Rostom A, Dubé C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garritty C et al. The diagnostic accuracy of serologic tests for celiac disease: a systematic review. *Gastroenterology* 2005; 128:S38-46.
- Lagerqvist C, Dahlbom I, Hansson T, Jidell E, Juto P, Olcén P et al. Antigliadin immunoglobulin A best in finding celiac disease in children younger than 18 months of age. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008;47:428-453.
- Kaukinen K, Collin P, Laurila K, Kaartinen T, Partanen J, Mäki M. Resurrection of gliadin antibodies in celiac disease. Deamidated gliadin peptide antibody test provides additional diagnostic benefit. *Scand J Gastroenterol* 2007;42:1428-1433.
- Husby S, Koletzko S, Korponay-Szábo IR, Mearin ML, Philips A, Shamir R et al. ESPHAGAN Working Group on coeliac disease diagnosis; ESPHAGAN Gastroenterology Committee. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012;54:136-60.

ANTICUERPOS ANTI-ENDOMISIO IgA

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-endomisio (EMA) son específicos de la enfermedad celíaca (EC). Históricamente, los EMA de isotipo IgA han sido los marcadores serológicos más precisos en el diagnóstico de la EC hasta que en el año 1998 se descubrió que su antígeno era la transglutaminasa tisular (tTG). A partir de este descubrimiento, se ha desarrollado y extendido la determinación de Ac anti-tTG.

Los EMA presentan una especificidad muy elevada para la EC (próxima al 100%) aunque su sensibilidad es algo menor que la de los anti-tTG IgA (85-95%). Por otra, la determinación de los EMA es dependiente de observador estando, por tanto, sujeta a error de interpretación. Por el contrario, la determinación de Ac anti-tTG IgA no depende de interpretación subjetiva lo que ha hecho que haya ido progresivamente sustituyendo a la de los EMA. Actualmente, se considera la determinación de Ac anti-tTG IgA como el test serológico más preciso para el diagnóstico de la EC.

Hasta ahora, independientemente de la edad, el diagnóstico final de la EC se basaba en la demostración de lesión histológica en la biopsia duodenal. Sin embargo, la European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGAHN) ha establecido en 2012 nuevos criterios para el diagnóstico de la enfermedad celíaca en niños y adolescentes. Concretamente, se incluye la determinación de EMA, como confirmación de la positividad para Ac anti-tTG IgA. Se establece que si estos dos autoAc son positivos y el tipaje HLA es DQ2/DQ8 se puede establecer el diagnóstico de celíaca sin realizar la biopsia (ver algoritmo diagnóstico).

Utilidad clínica

Diagnóstico de la EC.

Descripción del método

Inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre esófago de mono. El resultado final se obtiene por observación al microscopio de la presencia o ausencia del patrón de fluorescencia característico de los EMA ("panel de abeja"). Es una técnica semi-cuantitativa en la que la titulación de los EMA se realiza mediante diluciones seriadas.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Positivo $\geq 1/5$

Interpretación de los resultados

La determinación de EMA, solo se realiza para confirmar la presencia de Ac anti-tTG IgA. Un resultado positivo para EMA, junto con anti-tTG IgA, apoya fuertemente el diagnóstico de EC y junto con un tipaje HLA DQ2/DQ8 permite establecer el diagnóstico de EC en niños y adolescentes evitando la realización de la biopsia (ver algoritmo).

Algoritmo diagnostico

Tiempo de respuesta

15 días.

Bibliografía

Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Peter D, Volta U, Riecken EO, Schuppan D. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med* 1997;3:797-801.

Rostom A, Dubé C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garritty C et al. The diagnostic accuracy of serologic tests for celiac disease: a systematic review. *Gastroenterology* 2005; 128:S38-46.

Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Philips A, Shamir R et al. ESPHAGAN Working Group on coeliac disease diagnosis; ESPHAGAN Gastroenterology Committee. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012;54:136-60.

ANTICUERPOS ANTI-TRANSGLUTAMINASA IgG

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-transglutaminasa tisular (tTG) son específicos de la enfermedad celíaca (EC). La determinación de Ac anti-tTG de isotipo IgA es el test de elección para el diagnóstico de la EC. Sin embargo, el 2-5% de los pacientes con EC presentan déficit de IgA y, en estos casos, es necesario determinar los Ac anti-tTG de isotipo IgG. Estos Ac presentan una sensibilidad y especificidad de aproximadamente el 95%.

La determinación de los Ac anti-tTG IgG es útil para la monitorización de la EC ya que sus niveles disminuyen al desaparecer el gluten de la dieta.

Utilidad clínica

Diagnóstico y monitorización de la EC con déficit de IgA.

Descripción del método

Inmunoensayo de partículas direccionable por láser (*Addressable laser bead immunoassay, ALBIA*) utilizando como sustrato antigénico transglutaminasa. El resultado final se cuantifica por detección de fluorescencia emitida. Para evaluar los resultados de la prueba, la respuesta de las muestras de los pacientes se compara directamente con la respuesta de los calibradores. Los resultados se expresan en U/mL.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Positivos ≥ 15 U/mL

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo, apoya fuertemente el diagnóstico de EC. En niños y adolescentes con déficit de IgA, se realiza simultáneamente la determinación de Ac anti-dGp IgG. El seguimiento de una dieta sin gluten se asocia con la disminución de Ac anti-tTG IgG.

Tiempo de respuesta

Diagnóstico y seguimiento: 5 días.

Bibliografía

McGowan KE, Lyon ME, Butzner JD. Celiac disease and IgA deficiency: complications of serological testing approaches encountered in the clinic. *Clin Chem* 2008;54:1203-9.

Chow MA, Lebowitz B, Reilly NR, Green PH. Immunoglobulin A deficiency in celiac disease. *J Clin Gastroenterol* 2012;[Epub ahead of print]

Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Philips A, Shamir R et al. ESPHAGAN Working Group on coeliac disease diagnosis; ESPHAGAN Gastroenterology Committee. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012;54:136-60.

ANTICUERPOS ANTI-ENDOMISIO IgG

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-endomisio (EMA) son específicos de la enfermedad celíaca (EC). Históricamente, los EMA de isotipo IgA han sido los marcadores serológicos más precisos en el diagnóstico de la EC hasta que en el año 1998 se descubrió que su antígeno era la transglutaminasa tisular (tTG). A partir de este descubrimiento, se ha desarrollado y extendido la determinación de Ac anti-tTG.

El 2-5% de los pacientes con EC presentan déficit de IgA y, en estos casos, es necesario determinar los Ac anti-tTG de isotipo IgG. Estos Ac presentan una sensibilidad y especificidad de aproximadamente el 95%.

Utilidad clínica

Diagnóstico de la EC en pacientes con déficit de IgA.

Descripción del método

Inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre esófago de mono. El resultado final se obtiene por observación al microscopio de la presencia o ausencia del patrón de fluorescencia característico de los EMA ("panel de abeja"). Es una técnica semi-cuantitativa en la que la titulación de los EMA se realiza mediante diluciones seriadas.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Positivo $\geq 1/5$

Interpretación de los resultados

La determinación de EMA, solo se realiza para confirmar la presencia de Ac anti-tTG IgG. Un resultado positivo para EMA IgG, junto con anti-tTG IgG, apoya fuertemente el diagnóstico de EC y junto con un tipaje HLA DQ2/DQ8 permite establecer el diagnóstico de EC en niños y adolescentes evitando la realización de la biopsia

Tiempo de respuesta

15 días.

Bibliografía

McGowan KE, Lyon ME, Butzner JD. Celiac disease and IgA deficiency: complications of serological testing approaches encountered in the clinic. Clin Chem 2008;54:1203-9.

Chow MA, Lebwohl B, Reilly NR, Green PH. Immunoglobulin A deficiency in celiac disease. J Clin Gastroenterol 2012;[Epub ahead of print]

Husby S, Koletzky S, Korponay-Szábo IR, Mearin ML, Philips A, Shamir R et al. ESPHAGAN Working Group on coeliac disease diagnosis; ESPHAGAN Gastroenterology Committee. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2012;54:136-60.

ANTICUERPOS ANTI-PEPTIDOS DEAMIDADOS DE LA GLIADINA/ GLIADINA DEAMIDADA IgG

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-péptidos deamidados de la gliadina (dGp) son específicos de la enfermedad celíaca (EC). Actualmente, sustituyen a los Ac anti-gliadina (AGA) debido a su mayor sensibilidad y especificidad. Otros Ac asociados con la EC son los Ac anti-transglutaminasa (tTG) y los anti-endomisio (EMA) que también reconocen la tTG pero se detectan por una técnica diferente. Los dos principales antígenos de la EC se relacionan funcionalmente ya que la tTG es un enzima que modifica post-traduccionalmente la gliadina por deamidación. La EC presenta una alta asociación con el sistema de antígenos leucocitarios humanos (HLA) ya que el 90% de los pacientes son positivos para DQ2. De los pacientes DQ2 negativos, aproximadamente la mitad son DQ8.

Los isotipos IgG e IgA de anti-dGp presentan una elevada sensibilidad y especificidad para la EC (aproximadamente, 95%). Sin embargo, los de isotipo IgG presentan una sensibilidad mayor que los IgA en niños. De hecho, se ha descrito que los anti-dGp IgG son, al menos, tan sensibles como los anti-tTG IgA en niños menores de 2 años y, además, su aparición parece ser anterior a la de anti-tTG IgA. Todos estos datos apuntan a que la detección de anti-dGp IgG es recomendable en niños. Su sensibilidad parece ser menor en adultos. Por tanto, la determinación de anti-dGp IgG se incluye, junto con la de anti-tTG IgA, en el algoritmo diagnóstico de la EC en niños establecido en este Servicio (ver algoritmo).

Los niveles de los Ac asociados a EC, incluidos los anti-dGp, se correlacionan inversamente con la edad ya que los niños menores de 5 años presentan niveles más elevados que niños mayores y adultos. Además, existe una correlación directa de los niveles de Ac con el grado de lesión histológica.

La determinación de los Ac anti-dGp IgG es útil para la monitorización de la EC ya que sus niveles disminuyen al desaparecer el gluten de la dieta.

Los pacientes con EC presentan una prevalencia de déficit de IgA mayor que la población normal por lo que se recomienda cuantificar los niveles de esta Ig. En estos casos, la determinación de Ac anti-dGp es de gran utilidad sobre todo en pacientes pediátricos.

Además, la EC se asocia frecuentemente con otras enfermedades autoinmunes organoespecíficas. Entre ellas, la más frecuente es la diabetes mellitus tipo 1 ya que el 10-15% de estos pacientes tienen EC.

Utilidad clínica

Diagnóstico y monitorización de la EC.

Descripción del método

Inmunoensayo de partículas direccionable por láser (*Addressable laser bead immunoassay, ALBIA*) utilizando como sustrato antigénico péptidos sintéticos deamidados de gliadina. El resultado final se cuantifica por detección de fluorescencia emitida. Para evaluar los resultados de la prueba, la respuesta de las muestras de los pacientes se compara directamente con la respuesta de los calibradores. Los resultados se expresan en U/mL.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Positivos $\geq$ 15 U/mL

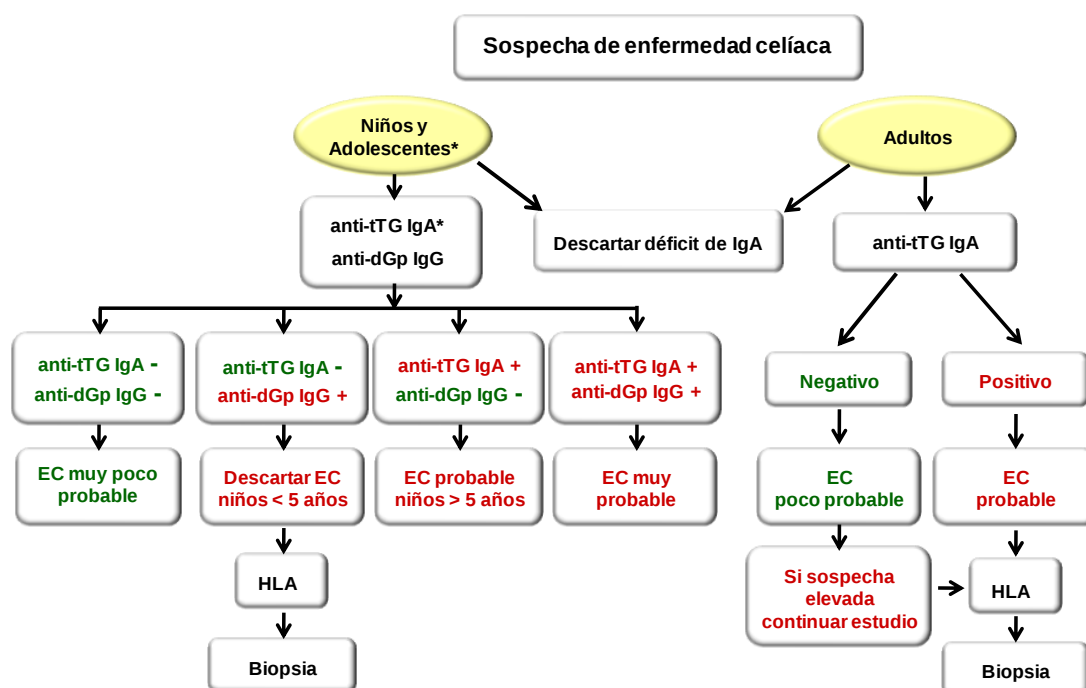
Interpretación de los resultados

Un resultado positivo, apoya fuertemente el diagnóstico de EC. En niños y adolescentes, se realiza simultáneamente la determinación de Ac anti-tTG IgA. En estos casos, un resultado positivo para ambos Ac es claramente indicativo de EC (ver algoritmo 1).

El seguimiento de una dieta sin gluten se asocia con la disminución de Ac anti-dpG IgG.

Algoritmo diagnostico

El algoritmo para la determinación de marcadores en el diagnóstico serológico de la EC es distinto en niños/adolescentes y en adultos.



* Seguir los criterios ESPAGHAN 2012 respecto a los niveles de Ac anti-tTG IgA

EC: enfermedad celíaca; dGp: péptido deamidado de gliadina; HLA: antígeno leucocitario Humano; tTG: transglutaminasa tisular;

Tiempo de respuesta

5 días

Bibliografía

Sugai E, Vázquez H, Nachman F, Moreno ML, Mazure R, Smecuol E et al. Accuracy of testing for antibodies to synthetic gliadin-related peptides in celiac disease. Clin Gastroenterol Hepatol 2006;4:1112-7.

Kaukinen K, Collin P, Laurila K, Kaartinen T, Partanen J, Mäki M. Resurrection of gliadin antibodies in celiac disease. Deamidated gliadin peptide antibody test provides additional diagnostic benefit. Scand J Gastroenterol 2007;42:1428-33.

Prause Ch, Ritter M, Probst Ch, Daehnrich C, Schlumberger W, Komorowski L et al. Antibodies against deamidated gliadin as new and accurate biomarkers of childhood coeliac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2009;49:52-8

Liu E, Li M, Emery L, Taki I, Barriga K, Tiberti C et al. Natural history of antibodies to deamidated gliadin peptides and transglutaminase in early childhood celiac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2007;45:293-300

Husby S, Koletzko S, Korponay-Szábo IR, Mearin ML, Philips A, Shamir R et al. ESPHAGAN Working Group on coeliac disease diagnosis; ESPHAGAN Gastroenterology Committee. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2012;54:136-60.

ANTICUERPOS ANTI-PEPTIDOS DEAMIDADOS DE LA GLIADINA/ GLIADINA DEAMIDADA IgA

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-péptidos deamidados de la gliadina (dGp) son específicos de la enfermedad celíaca (EC). Actualmente, sustituyen a los Ac anti-gliadina (AGA) debido a su mayor sensibilidad y especificidad. Otros Ac asociados con la EC son los Ac anti-transglutaminasa (tTG) y los anti-endomisio (EMA) que también reconocen la tTG pero se detectan por una técnica diferente. Los dos principales antígenos de la EC se relacionan funcionalmente ya que la tTG es un enzima que modifica post-traduccionalmente la gliadina por deamidación. La EC presenta una alta asociación con el sistema de antígenos leucocitarios humanos (HLA) ya que el 90% de los pacientes son positivos para DQ2. De los pacientes DQ2 negativos, aproximadamente la mitad son DQ8.

Los isotipos IgG e IgA de anti-dGp presentan una elevada sensibilidad y especificidad para la EC (90-95%). Sin embargo, la sensibilidad de los de isotipo IgA es menor que la de los IgG en niños menores de 5 años. Por tanto, no forman parte del algoritmo diagnóstico de rutina de la celíaca en niños establecido en este Servicio. Este algoritmo incluye la determinación de Ac anti-dGp IgG y anti-tTG IgA. La determinación de Ac anti-dGp IgA se realiza únicamente en casos de niños/adolescentes con Ac anti-dGp IgG pero negativos para anti-tTG IgA y en casos límite de anti-tTG IgA.

Utilidad clínica

Diagnóstico de la EC.

Descripción del método

Inmunoensayo de partículas direccionable por láser (*Addressable laser bead immunoassay, ALBIA*) utilizando como sustrato antigénico péptidos sintéticos deamidados de gliadina. El resultado final se cuantifica por detección de fluorescencia emitida. Para evaluar los resultados de la prueba, la respuesta de las muestras de los pacientes se compara directamente con la respuesta de los calibradores. Los resultados se expresan en U/mL.

Situaciones de realización

Únicamente en casos con Ac anti-gliadina deamidada IgG positivos y Ac anti-transglutaminasa IgA negativos como confirmación de serología celíaca

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Positivos $\geq$ 15 UA/mL

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo anti-dGp IgA junto con anti-dGp IgG y/o anti-tTG IgA apoya fuertemente el diagnóstico de EC.

Tiempo de respuesta

5 días

Bibliografía

Sugai E, Vázquez H, Nachman F, Moreno ML, Mazure R, Smecuol E et al. Accuracy of testing for antibodies to synthetic gliadin-related peptides in celiac disease. Clin Gastroenterol Hepatol 2006;4:1112-7.

Kaukinen K, Collin P, Laurila K, Kaartinen T, Partanen J, Mäki M. Resurrection of gliadin antibodies in celiac disease. Deamidated gliadin peptide antibody test provides additional diagnostic benefit. Scand J Gastroenterol 2007;42:1428-33.

Prause Ch, Ritter M, Probst Ch, Daehnrich C, Schlumberger W, Komorowski L et al. Antibodies against deamidated gliadin as new and accurate biomarkers of childhood coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2009;49:52-8

Liu E, Li M, Emery L, Taki I, Barriga K, Tiberti C et al. Natural history of antibodies to deamidated gliadin peptides and transglutaminase in early childhood celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2007;45:293-300

Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Philips A, Shamir R et al. ESPHAGAN Working Group on coeliac disease diagnosis; ESPHAGAN Gastroenterology Committee. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012;54:136-60.

ANTICUERPOS ANTI-MUSCULO ESTRIADO

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-músculo estriado (ME) reconocen distintos epitopos de proteínas del ME en la unión neuromuscular. Los principales antígenos son la titina, el receptor de la rianodina y la Kv 1.4. Se detectan principalmente solo en pacientes con miastenia gravis (MG) (30%) y raramente se encuentran en pacientes que no presenten los Ac anti-receptor de acetil colina (AChR), patognomónicos de la enfermedad. Se asocian con MG de comienzo tardío (30% en pacientes ≥ 50 años), con el desarrollo de MG en pacientes con timoma (50-95%) y con una enfermedad más severa en todos los subgrupos de la enfermedad.

El desarrollo de MG en pacientes con timoma, se considera una enfermedad paraneoplásica. En estos casos, la respuesta inmune contra un epitopo expresado en las células de timoma deriva sobre componentes de la unión neuromuscular que comparten el mismo epitopo.

Los Ac anti-ME detectados por Inmunofluorescencia indirecta (IFI) son principalmente anti-titina.

Utilidad clínica

La determinación de Ac anti-ME solo tiene utilidad clínica en MG. En concreto, se asocian con enfermedad de comienzo tardío, con timoma y con peor pronóstico.

Descripción del método

IFI sobre músculo estriado de rata. El resultado final se obtiene por observación al microscopio de la presencia o ausencia del patrón de fluorescencia característico de los anti-ME. Es una técnica semi-cuantitativa en la que la titulación de los anti-ME se realiza mediante diluciones seriadas.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Positivo $\geq 1/40$

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo apoya la presencia de MG de comienzo tardío, asociación con timoma y/o peor pronóstico.

Tiempo de respuesta

21 días

Bibliografía

Suzuki S, Utsugisawa K, Nagane Y, Suzuki N. Three types of strational antibodies in Myasthenia Gravis. Autoimmun Dis 2011;740583.

Romi F. Thymoma in Myasthenia Gravis: From diagnosis to treatment. Autoimmun Dis 2011;474512.

ANTICUERPOS ANTI-MUSCULO CARDIACO

Información clínica

Los mecanismos implicados en la patogénesis de la cardiomiopatías son múltiples incluyendo infecciones virales, anormalidades genéticas y/o mecanismos autoinmunes. Se reconoce que la autoinmunidad está implicada en una proporción sustancial de casos, posiblemente desencadenada por varios factores de daño vascular en individuos genéticamente predispuestos. La miocarditis autoinmune se caracteriza por la presencia de anticuerpos (Ac) anti-músculo cardíaco (MC). Estos Ac son específicos de miocarditis y su sensibilidad en pacientes con cardiomiopatía dilatada confirmada por biopsia es de aproximadamente el 30-45%. Se detectan más frecuentemente en la fase aguda de la inflamación y sus títulos disminuyen con la progresión de la enfermedad. Los pacientes con estos autoAc tienen una historia familiar de cardiomiopatía no isquémica más frecuente que los pacientes sin Ac. Además, están presentes en el 20-30% de familiares asintomáticos y, en estos casos, se consideran como factores predictivos independientes de la enfermedad en 5 años.

Utilidad clínica

Diagnóstico de cardiomiopatía autoinmune y factor predictivo en familiares asintomáticos.

Descripción del método

Inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre corazón de mono y sobre músculo estriado de rata. El resultado final se obtiene por observación al microscopio de la presencia o ausencia de un patrón de fluorescencia "estriado". Es una técnica semi-cuantitativa en la que la titulación de los anti-MC se realiza mediante diluciones seriadas.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Positivo $\geq 1/40$

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo de Ac anti-MC apoya el diagnóstico de miocarditis autoinmune y es un factor independiente predictivo en familiares asintomáticos.

Se pueden detectar dos tipos de Ac anti-MC:

Organoespecíficos: presentan reactividad solo en músculo cardíaco.

Parcialmente organoespecíficos: presentan reactividad tanto en músculo cardíaco como sobre músculo estriado.

Los dos tipos se asocian con miocarditis pero son más frecuentes los organoespecíficos (40% vs 15%).

Tiempo de respuesta

21 días.

Bibliografía

Caforio ALP, Marcolongo R, Jahns R, Fu M, Felis SB and Ilceto S. Immune-mediated and autoimmune myocarditis: clinical presentation, diagnosis and management. Heart Fail Rev. 2013;18:715-32.

Caforio ALP, Calabrese F, Angelini A, Tona F, Vinci A, Bottaro S et al. A prospective study of biopsy-proven myocarditis: prognostic relevance of clinical and aetiopathogenetic features at diagnosis. Eur Heart J 2007;28:1326-33.

ANTICUERPOS ANTI-SUSTANCIA INTERCELULAR/ MEMBRANA BASAL DE PIEL

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) sustancia intercelular y anti-membrana basal de piel (SIP y MBP) son marcadores diagnóstico de las enfermedades ampollas autoinmunes (EAA). Son Ac patógenos que se dirigen contra componentes proteicos que forman parte de las estructuras de adhesión, desmosomas y hemidesmosomas, de la epidermis y la membrana basal lo que origina la pérdida de la cohesión epidérmica o dermoepidérmica.

Los Ac anti-SIP se dirigen principalmente frente a las desmogleínas 1 y 3, son específicos del pénfigo y el 90% de pacientes con las formas clásicas (vulgar y foliáceo) presentan Ac circulantes. Tienen valor pronóstico ya que su título se correlaciona con la respuesta al tratamiento.

Los Ac anti-MBP reconocen mayoritariamente las proteínas BP230 y BP180 de los hemidesmosomas, son específicos del pénfigoide y el 90-95% de pacientes con pénfigoide ampollas presentan Ac circulantes.

El test más utilizado en la rutina diagnóstica para la detección de Ac en las EAA es la inmunofluorescencia indirecta (IFI) que permite distinguir según el patrón de fluorescencia observado los dos tipos de Ac (anti-SIP y anti-MBP) y, por tanto, la diferenciación entre pénfigo y pénfigoide.

Utilidad clínica

Diagnóstico y clasificación de EAA. Correlación entre la disminución del título de Ac anti-SIP y la respuesta al tratamiento.

Descripción del método

IFI sobre esófago de mono. El resultado final se obtiene por observación al microscopio de la presencia o ausencia del patrón característico de anti-SIP y/o anti-MBP. Es una técnica semi-cuantitativa en la que la titulación de los anti-SIP y/o anti-MBP se realiza mediante diluciones seriadas.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Positivo $\geq$ 1/20

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo para:

- anti-SIP: apoya el diagnóstico de pénfigo.
- anti-MBP: apoya el diagnóstico de pénfigoide.

La disminución en los niveles de Ac se correlaciona con la respuesta al tratamiento.

Tiempo de respuesta

15 días.

Bibliografía

Eming R, Hertl M. Autoimmune Diagnostics Working Group. Autoimmune bullous disorders. Clin Chem Lab Med 2006;44:144-9.
Zillikens D. Diagnosis of autoimmune bullous skin diseases. Clin Lab 2008;54:491-503.
Baroni A, Lanza A, Cirillo N, Brunetti G, Ruocco E, Ruocco V. Vesicular and bullous disorders: pemphigus. Dermatol Clin 2007;25:597-603.

ANTICUERPOS ANTI-GLUTAMICO DECARBOXILASA

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-glutámico decarboxilasa (GAD, *glutamic decarboxylase*) se asocian con diabetes mellitus tipo 1 (DM1). Junto con los Ac anti-insulina, anti-antígeno asociado al insulinoma (IA2), anti-transportador 8 del Zinc (ZnT8) y otros cuya diana antigénica todavía no se ha identificado, forman parte de los Ac anti-islotos pancreáticos (ICA, *islet cell antibodies*).

El GAD es un enzima que participa en la síntesis del ácido gamma aminobutírico, un neurotransmisor de carácter inhibitor. A este respecto, los Ac anti-GAD también se asocian con patologías neurológicas como el síndrome de persona rígida (SPS, del inglés) y ciertas formas de ataxia cerebelosa, encefalitis límbica y epilepsia. En estos casos, los títulos de Ac suelen ser más altos que en la DM1.

La prevalencia de los Ac anti-GAD es del 70-90% de los pacientes con DM1. Estos autoAc también se presentan en la diabetes autoinmune latente del adulto (LADA, *latent autoimmune diabetes in adults*) y la diabetes gestacional. Los Ac anti-GAD son los predominantes en la diabetes tipo LADA variando su frecuencia, según diferentes estudios, entre el 3-22%. En pacientes con DM1 de recién diagnóstico, su sensibilidad es de aproximadamente el 80-85% y su especificidad cercana al 100%.

Títulos elevados de los autoAc específicos de DM1 pueden tener valor pronóstico ya que el riesgo de desarrollar la enfermedad en familiares asintomáticos aumenta con el número de autoAc que presentan. Se ha comprobado que el 90% de los familiares que presentaban ICA y otros 2-3 autoAc progresaban a DM1. Por otra parte, la presencia de Ac anti-GAD en LADA se correlaciona con la necesidad de insulina antes de 6 años.

Utilidad clínica

Diagnóstico de DM1 y diagnóstico diferencial en diabetes de tipo indeterminado.

Valor predictivo en familiares asintomáticos de pacientes con DM1 y en pacientes con diabetes gestacional.

Valor predictivo de la necesidad de insulina en pacientes con LADA.

Valor diagnóstico en el SPS y encefalitis límbica.

Descripción del método

Enzimoimmunoensayo en placa (ELISA, *enzyme linked immunosorbent assay*) utilizando como sustrato antigénico GAD65. El resultado final se cuantifica por lectura de la señal del producto final de la reacción enzimática. Para evaluar los resultados de la prueba, la respuesta de las muestras de los pacientes se compara directamente con la respuesta de los calibradores obtenidos de la preparación de referencia de la Organización Mundial de la Salud (WHO, NIBSC 97/550). Los resultados se expresan en OMS U/mL.

En el caso de sospecha de DM, se realiza simultáneamente la determinación de Ac anti-IA2 y anti-ZnT8.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Positivos > 10 OMS U/mL

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo apoya fuertemente el diagnóstico de DM1.

Tiempo de respuesta

21 días

Bibliografía

Bingley PJ. Clinical applications of diabetes antibody testing. J Clin Endocrinol Metab. 2010;95:25-33.

Taplin CE, Barker JM. Autoantibodies in type 1 diabetes. *Autoimmunity* 2008;41:11-8.

Towns R, Pietropaolo M. GAD65 autoantibodies and ist role as biomarkers of type 1 diabetes and latent autoimmune diabetes in adults (LADA). *Drugs Future* 2011;36:847.

Dalakas MC, Fujii M, Li M, McElroy B. The clinical spectrum of anti-GAD antibody-positive patients with stiff-person syndrome. *Neurology* 2000;55:1531-5.

Malter MP, Helmstaedter C, Urbcah H, Vincent A, Bien CG. Antibodies to glutamic acid decarboxylase define a form of limbic encephalitis. *Ann Neurol* 2010;67:470-8.

ANTICUERPOS ANTI-IA2

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-antígeno asociado al insulinoma (IA2) son marcadores diagnósticos de diabetes mellitus tipo 1 (DM1). Junto con los Ac anti-insulina, anti-glutámico decarboxilasa (GAD, *glutamic decarboxylase*), los anti-transportador 8 del Zinc (ZnT8) y otros cuya diana antigénica todavía no se ha identificado, forman parte de los Ac anti-isletos pancreáticos (ICA, *islet cell antibodies*).

El IA2, también denominado ICA512, es una tirosinofosfatasa que participa en la regulación de la síntesis de insulina. Los Ac anti-IA2 se encuentran en un 70% de pacientes prediabéticos o pacientes recientemente diagnosticados de DM1 con una especificidad cercana al 100%. A diferencia de los Ac anti-GAD, aparecen en un bajo porcentaje de pacientes con diabetes autoinmune latente del adulto (LADA, *latent autoimmune diabetes in adults*). Su presencia es un factor de mal pronóstico, indicando progresión rápida de la enfermedad.

Los autoAc específicos de DM1 pueden tener valor pronóstico ya que el riesgo de desarrollar la enfermedad en familiares asintomáticos aumenta con el número de autoAc que presentan. Se ha comprobado que el 90% de los familiares que presentaban ICA y otros 2-3 autoAc progresaban a DM1. Por otra parte, la presencia de Ac anti-GAD en LADA se correlaciona con la necesidad de insulina antes de 6 años.

Utilidad clínica

Diagnóstico de DM1 y diagnóstico diferencial en diabetes de tipo indeterminado.

Valor predictivo en familiares asintomáticos de pacientes con DM1.

Descripción del método

Enzimoinmunoensayo en placa (ELISA, *enzyme linked immunosorbent assay*) utilizando como sustrato antigénico IA2. El resultado final se cuantifica por lectura de la señal del producto final de la reacción enzimática. Para evaluar los resultados de la prueba, la respuesta de las muestras de los pacientes se compara directamente con la respuesta de los calibradores obtenidos de la preparación de referencia de la Organización Mundial de la Salud (WHO, NIBSC 97/550). Los resultados se expresan en OMS U/mL.

Simultáneamente, se realiza la determinación de Ac anti-GAD y anti-ZnT8.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Positivos > 10 OMS/mL

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo apoya fuertemente el diagnóstico de DM1.

Tiempo de respuesta

21 días

Bibliografía

Bingley PJ. Clinical applications of diabetes antibody testing. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95:25-33.

Taplin CE, Barker JM. Autoantibodies in type 1 diabetes. *Autoimmunity* 2008;41:11-8.

ANTICUERPOS ANTI-TRANSPORTADOR 8 DEL ZINC

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-transportador 8 del Zinc (ZnT8) se asocian con diabetes mellitus tipo 1 (DM1). Junto con los Ac anti-insulina, anti-glutámico decarboxilasa (GAD, *glutamic decarboxylase*), anti-antígeno asociado al insulinoma (IA2) y otros cuya diana antigénica todavía no se ha identificado, forman parte de los Ac anti-isletos pancreáticos (ICA, *islet cell antibodies*).

El ZnT8 pertenece a la familia de transportadores del Zinc SLC30 (ZnT). Se expresa de manera preferencial en el páncreas donde media la entrada del Zn a las vesículas secretoras de las células β lo que permite almacenar la insulina como un hexámero unido a dos átomos de Zn.

La determinación de estos autoAc junto a los anti-insulina, GAD e IA-2 en pacientes diabéticos de inicio permite confirmar la DM1 en más del 96% de los casos.

Utilidad clínica

Diagnóstico de DM1 y diagnóstico diferencial en diabetes de tipo indeterminado.

Descripción del método

Enzimoinmunoensayo en placa (ELISA, *enzyme linked immunosorbent assay*) utilizando como sustrato antigénico GAD65. El resultado final se cuantifica por lectura de la señal del producto final de la reacción enzimática.

Simultáneamente, se realiza la determinación de Ac anti-GAD y anti-IA-2.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero. (Contenedor): Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Positivos > 20 U/mL

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo apoya fuertemente el diagnóstico de DM1.

Tiempo de respuesta

21 días

Bibliografía

Wenzlau JM, Juhl K, Yu L, Moua O, Sarkar SA, Gottlieb P et al. The cation efflux transporter ZnT8 (SLC30A8) is a major autoantigen in human type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:17040-5.

PERFIL DE ANTICUERPOS ONCONEURONALES

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) onconeuronales se asocian con los síndromes neurológicos paraneoplásicos (SNPN) manifestados principalmente como encefalitis límbica y/o ataxia cerebelosa. En estos síndromes, el desorden neurológico está relacionado con un cáncer subyacente y son debidos a la respuesta inmunológica frente a antígenos compartidos por el tumor y tejido neuronal (onconeuronales), caracterizada principalmente por la producción de Ac.

Los Ac onconeuronales asociados a SNPN son tan heterogéneos como los propios síndromes:

- Los denominados onconeuronales clásicos se dirigen fundamentalmente contra antígenos intracelulares y, en su mayoría, bien caracterizados. Dentro de este grupo se incluyen los anti-Hu (ANNA-1), Yo (PCA-1), Ri (ANNA-2), CV2/CRMP5, anfifisina, Ma/Ta y Tr/DNER. En todos ellos, se ha demostrado síntesis intratecal y se les supone un papel secundario en el proceso inflamatorio. La asociación con cáncer es muy elevada (95%) y la aparición de los Ac predice mejor el tipo de tumor subyacente que las propias características del síndrome neurológico. Por lo general, los SNPN asociados a Ac onconeuronales clásicos no responden al tratamiento inmunosupresor y presentan un mal pronóstico.
- Los Ac anti-Sox-1 y Zic-4 son Ac con una elevada prevalencia de neoplasia (principalmente carcinoma de células pequeñas de pulmón) pero no necesariamente asociados a síntomas neurológicos.
- Los Ac anti-titina se asocian con presencia de timoma en pacientes con miastenia gravis positivos para Ac anti-receptor de acetil colina (AChR).
- Los Ac anti-recoverina se asocian con retinopatía asociada a cáncer

Algunos pacientes con SNPN no presentan Ac circulantes lo cual no descarta que la causa del SNPN sea autoinmune.

En la siguiente tabla, se indica el tipo de neoplasia más frecuentemente asociado a los distintos Ac onconeuronales.

Anticuerpo	Neoplasia
Anti-Hu (ANNA-1)	Carcinoma de células pequeñas de pulmón (CCPP)
Anti-Yo (PCA-1)	Ovario, mama
Anti-Ri (ANNA-2)	CCPP, mama
Anti-CV2/CRMP5	CCPP, timoma
Anti-anfifisina	CCPP, mama
Anti-Ma/Ta	Testículo
Anti-Tr/DNER (PCA-2)	Linfoma Hodgkin
Anti-SOX1	CCPP
Anti-Zic4	CCPP
Anti-titina	Timoma
Anti-recoverina	Varios tipos incluyendo CCP

Utilidad clínica

Diagnóstico de los SNPN.

Descripción del método

Inicialmente se realiza un cribado mediante inmunoblot. La tira de inmunoblot sobre la que se realiza el ensayo lleva dispuestos de manera individual los antígenos recombinantes correspondientes Hu, Yo, Ri, CV2/CRMP5, anfifisina, Ma/Ta, Tr/DNER, SOX1 y Zic4. También se encuentra el Ag glutámico decarboxilasa (GAD) que aunque no se asocia con neoplasia es de utilidad neurológica debido a su asociación con el síndrome de persona rígida, encefalitis y epilepsia. La señal de reacción que permite la

identificación individual de los autoAc se obtiene mediante reacción enzimática que se interpreta visualmente.

En caso de positividad por inmunoblot (excepto los anti-titina y recoverina), se realiza la confirmación por Inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre cerebelo de mono. El resultado final se obtiene por observación al microscopio de la presencia o ausencia del patrón característico de cada uno de los Ac onconeuronales.

La confirmación de los Ac anti-titina se realiza por IFI sobre músculo estriado de mono mediante la detección del patrón correspondiente a Ac anti-músculo estriado.

Los Ac anti-recoverina no se confirman por IFI.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Interpretación de los resultados

Se considera confirmada la presencia de un Ac onconeuronal asociado a un síndrome paraneoplásico clásico cuando los resultados por ambas técnicas son positivos para alguno de los Ac. Un resultado negativo para estos Ac no descarta la presencia de un SNPN.

Tiempo de respuesta

15 días

Bibliografía

Dalmau J, Rosenfeld MR. Paraneoplastic syndromes of the CNS. Lancet 2008;7:327-40.

Graus F, Delattre JY, Antoine C, Dalmau J, Giometto B, Grisold W et al. Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2004;75:1135-40.

Romi F. Thymoma in myasthenia gravis: from diagnosis to treatment. Autoimmune Dis 2011;2011:474512. <https://doi.org/10.4061/2011/474512>.

Canamary Jr. et al. Autoimmune retinopathy: A Review Int J Retin Vitre (2018) 4:1 <https://doi.org/10.1186/s40942-017-0104-9>.

ANTICUERPOS ANTI-HU

Información clínica

Los Ac anti-Hu forman parte del grupo onconeuronales clásicos asociados a síndromes neurológicos paraneoplásicos (SNPN) junto con los anti-Yo (PCA-1), Ri (ANNA-2), CV2/CRMP5, anfifisina, Ma/Ta y Tr/DNER. En todos ellos, se ha demostrado síntesis intratecal y se les supone un papel secundario en el proceso inflamatorio. La asociación con cáncer es muy elevada (95%) y la aparición de los Ac predice mejor el tipo de tumor subyacente que las propias características del síndrome neurológico. Los Ac anti-Hu presentan una elevada asociación con carcinoma de célula pequeña de pulmón (CCPP).

Petición a solicitar: Ac onconeuronales. Esta petición incluye los Ac onconeuronales anti-Hu, Yo, Ri, CV2/CRMP5, anfifisina, Ma/Ta, Tr/DNER, SOX1 y Zic4 y de manera suplementaria los anti-glutámico decarboxilasa (GAD), titina y recoverina.

Algoritmo diagnóstico e interpretación de los resultados

En caso de positividad anti-Hu por inmunoblot, se realiza la confirmación por Inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre cerebelo de mono. El patrón característico de los anti-Hu es fluorescencia en núcleos neuronales y tinción leve en el citoplasma de células de Purkinje. Los Ac anti-Hu también se denominan ANNA-1 (*antinuclear neuronal antigen 1*) debido a que reaccionan específicamente con los núcleos neuronales y no con los de otros tejidos y órganos.

Un resultado positivo para anti-Hu por IFI y por inmunoblot es diagnóstico de un SNPN probablemente asociado a CCP.

Resto de requisitos/información

Ver Perfil de anticuerpos onconeuronales

ANTICUERPOS ANTI-YO

Información clínica

Los Ac anti-Yo forman parte del grupo onconeuronales clásicos asociados a síndromes neurológicos paraneoplásicos (SNPN) junto con los anti-Hu (ANNA-1), Ri (ANNA-2), CV2/CRMP5, anfifisina, Ma/Ta y Tr/DNER. En todos ellos, se ha demostrado síntesis intratecal y se les supone un papel secundario en el proceso inflamatorio. La asociación con cáncer es muy elevada (95%) y la aparición de los Ac predice mejor el tipo de tumor subyacente que las propias características del síndrome neurológico. Los Ac anti-Yo se asocian con tumores de ovario y mama.

Petición a solicitar: Ac onconeuronales. Esta petición incluye los Ac onconeuronales anti-Hu, Yo, Ri, CV2/CRMP5, anfifisina, Ma/Ta, Tr/DNER, SOX1 y Zic4 y de manera suplementaria los anti-glutámico decarboxilasa (GAD), titina y recoverina.

Algoritmo diagnóstico e interpretación de los resultados

En caso de positividad anti-Yo por inmunoblot, se realiza la confirmación por Inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre cerebelo de mono. El patrón característico de los anti-Yo es fluorescencia del citoplasma de células de Purkinje por lo que también se denominan anti-PCA-1 (*anti-Purkinje cell antigen 1*).

Un resultado positivo para anti-Yo por inmunoblot e IFI es diagnóstico de un SNPN probablemente asociado a tumores ginecológicos (ovario y mama).

Resto de requisitos/información

Ver Perfil de anticuerpos onconeuronales

ANTICUERPOS ANTI-RI

Información clínica

Los Ac anti-Ri forman parte del grupo onconeuronales clásicos asociados a síndromes neurológicos paraneoplásicos (SNPN) junto con los anti-Hu (ANNA-1), Yo (PCA-1), CV2/CRMP5, anfifisina, Ma/Ta y Tr/DNER. En todos ellos, se ha demostrado síntesis intratecal y se les supone un papel secundario en el proceso inflamatorio. La asociación con cáncer es muy elevada (95%) y la aparición de los Ac predice mejor el tipo de tumor subyacente que las propias características del síndrome neurológico. Los Ac anti-Ri se asocian con carcinoma de célula pequeña de pulmón (CCPP) y de mama.

Petición a solicitar: Ac onconeuronales. Esta petición incluye los Ac onconeuronales anti-Hu, Yo, Ri, CV2/CRMP5, anfifisina, Ma/Ta, Tr/DNER, SOX1 y Zic4 y de manera suplementaria los anti-glutámico decarboxilasa (GAD), titina y recoverina. .

Algoritmo diagnóstico e interpretación de los resultados

En caso de positividad anti-Ri por inmunoblot, se realiza la confirmación por Inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre cerebelo de mono. El patrón característico de los anti-Ri es fluorescencia de los núcleos neuronales, similar al de los anti-Hu pero sin tinción en el citoplasma de las células de Purkinje. Por ello, los Ac anti-Ri también se denominan ANNA-2 (*antinuclear neuronal antigen 2*) ya que reaccionan específicamente con los núcleos neuronales y no con los de otros tejidos y órganos.

Un resultado positivo para anti-Ri por inmunoblot e IFI es diagnóstico de un SNPN probablemente asociado a CCP y tumores de mama.

Resto de requisitos/información

Ver Perfil de anticuerpos onconeuronales

ANTICUERPOS ANTI-CV2/CRMP5

Información clínica

Los Ac anti-CV2/CRMP5 forman parte del grupo onconeuronales clásicos asociados a síndromes neurológicos paraneoplásicos (SNPN) junto con los anti-Hu (ANNA-1), Yo (PCA-1), Ri (ANNA-2), anfifisina, Ma/Ta y Tr/DNER. En todos ellos, se ha demostrado síntesis intratecal y se les supone un papel secundario en el proceso inflamatorio. La asociación con cáncer es muy elevada (95%) y la aparición de los Ac predice mejor el tipo de tumor subyacente que las propias características del síndrome neurológico. Los Ac anti-CV2/CRMP5 se asocian con carcinoma de célula pequeña de pulmón (CCPP) y timoma.

Petición a solicitar: Ac onconeuronales. Esta petición incluye los Ac onconeuronales anti-Hu, Yo, Ri, CV2/CRMP5, anfifisina, Ma/Ta, Tr/DNER, SOX1 y Zic4 y de manera suplementaria los anti-glutámico decarboxilasa (GAD), titina y recoverina. .

Algoritmo diagnóstico e interpretación de los resultados

En caso de positividad anti-CV2/CRMP5 por inmunoblot, se realiza la confirmación por Inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre cerebelo de mono. El patrón característico de los anti-CV2/CRMP5 es fluorescencia tipo granular en el citoplasma de los oligodendrocitos de la capa granular y sustancia blanca del cerebelo.

Un resultado positivo para anti-CV2/CRMP5 por IFI y por inmunoblot es diagnóstico de SNPN. Los tumores más frecuentemente asociados son los de CCPP y timoma.

Resto de requisitos/información

Ver perfil de anticuerpos onconeuronales

ANTICUERPOS ANTI-ANFIFISINA

Información clínica

Los Ac anti-anfifisina forman parte del grupo onconeuronales clásicos asociados a síndromes neurológicos paraneoplásicos (SNPN) junto con los anti-Hu (ANNA-1), Yo (PCA-1), Ri (ANNA-2), CV2/CRMP5, Ma/Ta y Tr/DNER. En todos ellos, se ha demostrado síntesis intratecal y se les supone un papel secundario en el proceso inflamatorio. La asociación con cáncer es muy elevada (95%) y la aparición de los Ac predice mejor el tipo de tumor subyacente que las propias características del síndrome neurológico. Los Ac anti-anfifisina se asocian con carcinoma de célula pequeña de pulmón (CCPP) y de mama.

Petición a solicitar: Ac onconeuronales. Esta petición incluye los Ac onconeuronales anti-Hu, Yo, Ri, CV2/CRMP5, anfifisina, Ma/Ta, Tr/DNER, SOX1 y Zic4 y de manera suplementaria los anti-glutámico decarboxilasa (GAD), titina y recoverina..

Algoritmo diagnóstico e interpretación de los resultados

En caso de positividad anti-anfifisina por inmunoblot, se realiza la confirmación por Inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre cerebelo de mono. El patrón característico de los anti-anfifisina es fluorescencia en las sinapsis de la capa granular y positividad en la capa molecular.

Un resultado positivo para anti-anfifisina por IFI y por inmunoblot es diagnóstico de SNPN. Los tumores más frecuentemente asociados son los de CCPP y de mama.

Resto de requisitos/información

Ver perfil de anticuerpos onconeuronales

ANTICUERPOS ANTI-MA2/MA1

Información clínica

Los Ac anti-Ma2/Ma1 forman parte del grupo onconeuronales asociados a síndromes neurológicos paraneoplásicos (SNPN) junto con los anti-Hu (ANNA-1), Yo (PCA-1), Ri (ANNA-2), CV2/CRMP5, anfifisina y Tr/DNER. En todos ellos, se ha demostrado síntesis intratecal y se les supone un papel secundario en el proceso inflamatorio. La asociación con cáncer es muy elevada (95%) y la aparición de

los Ac predice mejor el tipo de tumor subyacente que las propias características del síndrome neurológico. Los Ac anti-Ma2/Ma1 se asocian muy estrechamente con carcinoma de testículo.

Petición a solicitar: Ac onconeuronales. Esta petición incluye los Ac onconeuronales anti-Hu, Yo, Ri, CV2/CRMP5, anfifisina, Ma/Ta, Tr/DNER, SOX1 y Zic4 y de manera suplementaria los anti-glutámico decarboxilasa (GAD), titina y recoverina..

Algoritmo diagnóstico e interpretación de los resultados

En caso de positividad anti-Ma por inmunoblot, se realiza la confirmación por Inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre cerebelo de mono. El patrón característico de los anti-Ma2/Ma1 es fluorescencia del núcleo dentado, puntos en el nucléolo o en el citoplasma.

Un resultado positivo para anti-Ma2/Ma1 por inmunoblot e IFI es diagnóstico de SNPN. Los tumores más frecuentemente asociados son los de testículo.

Resto de requisitos/información

Ver Perfil de anticuerpos onconeuronales

ANTICUERPOS Anti-Tr/DNER/DNER

Información clínica

Los Ac anti-Tr/DNER/DNER forman parte del grupo onconeuronales asociados a síndromes neurológicos paraneoplásicos (SNPN) junto con los anti-Hu (ANNA-1), Yo (PCA-2), Ri (ANNA-2), CV2/CRMP5, anfifisina y Ma/Ta. En todos ellos, se ha demostrado síntesis intratecal y se les supone un papel secundario en el proceso inflamatorio. La asociación con cáncer es muy elevada (95%) y la aparición de los Ac predice mejor el tipo de tumor subyacente que las propias características del síndrome neurológico. Los Ac anti-Tr/DNER/DNER se asocian con linfoma de Hodgkin.

Petición a solicitar: Ac onconeuronales. Esta petición incluye los Ac onconeuronales anti-Hu, Yo, Ri, CV2/CRMP5, anfifisina, Ma/Ta, Tr/DNER, SOX1 y Zic4 y de manera suplementaria los anti-glutámico decarboxilasa (GAD), titina y recoverina..

Algoritmo diagnóstico e interpretación de los resultados

En caso de positividad anti-Tr/DNER por inmunoblot, se realiza la confirmación por Inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre cerebelo de mono. El patrón característico de los anti-Tr/DNER es fluorescencia del citoplasma de células de Purkinje por lo que también se denominan anti-PCA-2 (*anti-Purkinje cell antigen 2*).

Un resultado positivo para anti-Tr/DNER por inmunoblot e IFI es diagnóstico de un SNPN. El tumor más frecuentemente asociado es el linfoma de Hodgkin.

Resto de requisitos/información

Ver perfil de anticuerpos onconeuronales

ANTICUERPOS ANTI-SOX1

Información clínica

Los Ac anti-Sox-1 son Ac con una elevada prevalencia de neoplasia (principalmente carcinoma de células pequeñas de pulmón) pero, a diferencia de los onconeuronales clásicos (anti-Hu, Yo, Ri, CV2/CRMP5, anfifisina, Ma/Ta y Tr/DNR) no están necesariamente asociados a síntomas neurológicos. No se ha demostrado síntesis intratecal y no hay evidencia de un posible papel patogénico en los síndromes neurológicos paraneoplásicos (SNPN).

Petición a solicitar: Ac onconeuronales. Esta petición incluye los Ac onconeuronales anti-Hu, Yo, Ri, CV2/CRMP5, anfifisina, Ma/Ta, Tr/DNER, SOX1 y Zic4 y de manera suplementaria los anti-glutámico decarboxilasa (GAD), titina y recoverina..

Algoritmo diagnóstico e interpretación de los resultados

En caso de positividad anti-SOX1 por inmunoblot, se realiza la confirmación por Inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre cerebelo de mono. El patrón característico de los anti-SOX1 es la tinción de los núcleos de la glia de Bergmann.

Un resultado positivo para anti-SOX1 por inmunoblot e IFI apoya el diagnóstico de SNPN. El tumor más frecuentemente asociado es el carcinoma de células pequeñas de pulmón.

Resto de requisitos/información

Ver Perfil de anticuerpos onconeuronales

ANTICUERPOS ANTI-Zic4

Información clínica

Los Ac anti-Zic4 son Ac con una elevada prevalencia de neoplasia (principalmente carcinoma de células pequeñas de pulmón) pero, a diferencia de los onconeuronales clásicos (anti-Hu, Yo, Ri, CV2/CRMP5, anfifisina, Ma/Ta y Tr/DNR) no están necesariamente asociados a síntomas neurológicos. No se ha demostrado síntesis intratecal y no hay evidencia de un posible papel patogénico en los síndromes neurológicos paraneoplásicos (SNPN).

Petición a solicitar: Ac onconeuronales. Esta petición incluye los Ac onconeuronales anti-Hu, Yo, Ri, CV2/CRMP5, anfifisina, Ma/Ta, Tr/DNR, SOX1 y Zic4 y de manera suplementaria los anti-glutámico decarboxilasa (GAD), titina y recoverina.

Algoritmo diagnóstico e interpretación de los resultados

En caso de positividad anti-Zic4 por inmunoblot, se realiza la confirmación por Inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre cerebelo de mono. Los Ac anti-Zic4 muestran un patrón de fluorescencia consistente en reactividad en los núcleos de la capa granular del cerebelo.

Un resultado positivo para anti-Zic4 apoya el diagnóstico de SNPN. El tumor más frecuentemente asociado es el carcinoma de células pequeñas de pulmón.

Resto de requisitos/información

Ver Perfil de anticuerpos onconeuronales

ANTICUERPOS ANTI-TITINA

Información clínica

Los Ac anti-titina se presentan en $\approx 20-40\%$ de los pacientes con miastenia gravis (MG). Su presencia se asocia con neoplasia tímica ya que $\approx$ el 10% de los pacientes con MG y positivos para Ac anti-receptor de acetil colina (AChR) presentan timoma aumentando esta prevalencia hasta el 60-100% en los pacientes que también presentan Ac anti-titina.

Petición a solicitar: Ac onconeuronales. Esta petición incluye los Ac onconeuronales anti-Hu, Yo, Ri, CV2/CRMP5, anfifisina, Ma/Ta, Tr/DNR, SOX1 y Zic4 y de manera suplementaria los anti-glutámico decarboxilasa (GAD), titina y recoverina.

Algoritmo diagnóstico e interpretación de los resultados

En caso de positividad anti-titina por inmunoblot, se realiza la confirmación por Inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre músculo estriado de mono. La titina es el autoantígeno de los Ac anti-músculo estriado por lo que la confirmación se basa en la observación de dicho patrón.

Un resultado positivo para anti-titina se asocia con la presencia de timoma en MG.

Resto de requisitos/información

Ver Perfil de anticuerpos onconeuronales

Bibliografía

Suzuki S, Utsugisawa K, Nagane Y, Suzuki N. Three types of striational antibodies in myasthenia gravis. Autoimmune Dis 2011; 2011:740583. <https://doi.org/10.4061/2011/740583>.

ANTICUERPOS ANTI-RECOVERINA

Información clínica

Los Ac anti-recoverina se presentan en pacientes con retinopatía asociada a cáncer (CAR) aunque también se pueden presentar en pacientes con cáncer sin afectación visual. La prevalencia de estos autoAc no está claramente establecida en CAR y se ha asociado a varios tipos de cáncer incluyendo el carcinoma de células pequeñas de pulmón (CPP), de cervix, endometrial y de utero.

Petición a solicitar: Ac onconeuronales. Esta petición incluye los Ac onconeuronales anti-Hu, Yo, Ri, CV2/CRMP5, anfifisina, Ma/Ta, Tr/DNER, SOX1 y Zic4 y de manera suplementaria los anti-glutámico decarboxilasa (GAD), titina y recoverina.

Interpretación de los resultados

La presencia de Ac anti-recoverina se asocia con neoplasia en retinopatías.

Resto de requisitos/información

Ver Perfil de anticuerpos onconeuronales

Bibliografía

Canamary Jr. et al. Autoimmune retinopathy: A Review Int J Retin Vitr (2018) 4:1
<https://doi.org/10.1186/s40942-017-0104-9>

ANTICUERPOS ANTI-ACUAPORINA

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-acuaporina se asocian con neuromielitis óptica (NMO) por lo que también se denominan NMO IgG. Su antígeno es la acuaporina 4, el canal de agua más abundante del sistema nervioso central. Están presentes al menos en el 80% de los pacientes con NMO y existe evidencia de que están directamente implicados en la patogénesis de la enfermedad. Los pacientes con NMO seropositivos para Ac anti-acuaporina presentan un patrón de enfermedad diferente de los seronegativos: son predominantemente mujeres, presentan más frecuentemente otras enfermedades autoinmunes y sufren brotes más severos.

Utilidad clínica

Digánóstico de NMO.

Descripción del método

Inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre células transfectadas con el gen de la acuaporina-4 y sobre células sin transfectar. El resultado final se obtiene por observación al microscopio de la presencia o ausencia de reactividad en las células transfectadas. Como control negativo, no hay que observar reactividad en las células sin transfectar.

En el mismo ensayo, se determinan simultáneamente los Ac anti-glicoproteína de la mielina de los oligodendrocitos (MOG).

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo apoya fuertemente el diagnóstico de NMO.

Tiempo de respuesta

10 días.

Bibliografía

Hinson SR, Lennon VA, Pittock SJ. Autoimmune AQP4 channelopathies and neuromyelitis optica spectrum disorders. Handb Clin Neurol 2016; doi: 10.1016

ANTICUERPOS ANTI-GLICOPROTEINA DE LA MIELINA DEL OLIGODENDROCITO (MOG)

Información clínica

Los Ac anti-glicoproteína de la mielina del oligodendrocito (MOG) se asocian con enfermedades del espectro de la neuromielitis óptica detectándose en aproximadamente la mitad de los pacientes negativos para Ac anti-acuaporina 4. Su antígeno es la glicoproteína de la mielina del oligodendrocito (MOG), un miembro de la familia de las Igs, es una proteína expresada únicamente en la superficie exterior de las vainas de mielina y en membrana de oligodendrocito. Estudios preliminares sugieren que las características clínicas de los pacientes anti-MOG positivos son diferentes a las de los pacientes con Ac anti-acuaporina.

Utilidad clínica

Diagnóstico de enfermedades del espectro de la neuromielitis óptica.

Descripción del método

Inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre células transfectadas con el gen MOG y sobre células sin transfectar. El resultado final se obtiene por observación al microscopio de la presencia o ausencia de reactividad en las células transfectadas. Como control negativo, no hay que observar reactividad en las células sin transfectar.

En el mismo ensayo, se determinan simultáneamente los Ac anti-acuaporina 4.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero. (Contenedor): Tubo de tapón rojo

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo apoya el diagnóstico de una enfermedad del espectro de la neuromielitis óptica.

Tiempo de respuesta

10 días.

Bibliografía

Peschl P, Bradl M, Höftberger R, Berger T, Reindl M. Myelin oligodendrocyte glycoprotein: Deciphering a target in inflammatory demyelinating diseases. *Front Immunol* 2017;8:529.

Hamid SHM, Whittam D, Mutch K, Linaker S, Solomon T, Das T et al. What proportion of AQP4-IgG-negative NMO spectrum disorder patients are MOG-IgG positive? A cross sectional study of 132 patients. *J Neurol* 2017;264:2088

ANTICUERPOS ANTI-GANGLIOSIDOS

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-gangliósido se asocian con polineuropatías periféricas tanto agudas como crónicas con implicación motora y/o sensorial. Los gangliósidos son una familia de hasta 50 glicoesfingolípidos presentes en elevadas cantidades en la membrana plasmática situados en clusters en microdominios ricos en colesterol denominados "balsas de lípidos (lipid rafts)". La nomenclatura de los gangliósidos es compleja y se basa en su composición molecular:

- una larga cadena de amina alifática (ceramida) anclada en la bicapa lipídica
- un oligosacárido (en la mayoría de los casos una glucosa unida a una combinación de galactosa y galactosamina).
- uno o varios residuos de ácido siálico (ácido *N*-acetilneuramínico).

La presencia de molécula(s) de ácido siálico enlazadas a residuo(s) de galactosa define un glicoesfingolípido como gangliósido. La letra G se refiere a gangliósido, la segunda letra se refiere al número de residuos de ácido siálico (M=1, D=2, T=3 y Q=4), el siguiente número se refiere a la secuencia de carbohidratos en el oligosacárido y la letra final minúscula se refiere a la posición isomérica de los residuos de ácido siálico

Los Ac con mayor valor diagnóstico son los dirigidos frente a GM1, GM2, GD1a, GD1b, GD3, GT1a, GT1b y GQ1b. Distintas observaciones relacionadas con determinados Ac anti-gangliósido sugieren que estos autoAc pueden tener un papel patogénico (depósito de Inmunoglobulinas y complemento en el axolema en pacientes positivos, inducción de la disrupción nodal dependiente de activación de complemento en modelos animales e inducción de bloqueo parcial y reversible de la conducción en un modelo murino).

En la siguiente tabla, se indican las principales asociaciones de los Ac anti-gangliósido con polineuropatías periféricas agudas y crónicas. Los Ac asociados a formas agudas son de isotipo IgG y los asociados a formas crónicas son de isotipo IgM.

Agudas/S. Guillain Barré	Anticuerpo
Axonal motora (AMAN)	Complejos GM1/GalNac-GD1a, GD3
Axonal sensitivo motora (AMSAN)	GM1, GD1a, GD1b, GalNac-GD1a
S. Miller Fisher (SMF) (ataxia, arreflexia y oftalmoplejía)	GQ1b (ocasionalmente GT1a)
Encefalitis de Bickerstaff (SMF + afectación SNC*)	GQ1b
Sensorial/atáxica (ASAN)	GD1b, otros epitopos disíalicos**
Faringo-cervico-braquial	GT1a, GQ1b
S. Guillain Barré/infección CMV	GM2
Crónicas	
Multifocal motora (MMN)	GM1, GD1a, GD1b (epitopos de galactosa y galactosamina)
Atáxica sensorial (CANOMAD: Chronic Ataxic Neuropathy, Ophthalmoplegia, IgM paraprotein, cold Agglutinins, Disialosyl)	GD1b, otros epitopos disíalicos**

*Sistema nervioso central

** Gangliósidos que contienen más de un residuo de ácido siálico (D, T y Q)

*** Citomegalovirus

Utilidad clínica

Diagnóstico de polineuropatías periféricas

Descripción del método

Inmunoblot en el que la tira sobre la que se realiza el ensayo lleva dispuestos de manera individual los antígenos GM1, GM2, GM3, GM4, GD1a, GD1b, GD2, GD3, GT1a, GT1b y GQ1b y de manera adicional sulfátidos. Inicialmente se realiza un cribado IgG+IgM. La señal de reacción que permite la identificación individual de los autoAc se obtiene mediante reacción enzimática que se interpreta visualmente. En caso de positividad IgG+IgM se analiza posteriormente la reactividad IgG e IgM (ver algoritmo diagnóstico).

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Interpretación de los resultados

Los resultados se informan como:

- Isotipo IgG e IgM: No se detectan por inmunoblot. En caso de no se observarse reactividad.
- En caso de que el cribado IgG+IgM haya sido positivo, se informan de manera individual los dos isotipos indicando en cada caso el resultado.

Se añade un comentario que indica la técnica utilizada y los gangliósidos incluidos en el ensayo.

Algoritmo diagnóstico

**DETERMINACION DE ANTICUERPOS ANTI-
GANGLIOSIDO
Inmunoblot (IB)
GM1, GM2, GM3, GM4, GD1a, GD1b, GD2, GD3, GT1a, GT1b,
GQ1b
y sulfátidos
Negativo
Cribado isotipo
IgG + IgM
Positivo
Isotipo IgG
Isotipo IgM**

Tiempo de respuesta

21 días

Bibliografía

Bourque PR, Chardon JW, Massie R. Autoimmune peripheral neuropathies. Clin Clim Acta 2015;449:37-42.

Van den Berg B, Walgaard C, Drenthen J, Fokke C, Jacobs BC and van Doorn PA. Guillain-Barré syndrome: pathogenesis, diagnosis, treatment and prognosis. Nat Rev Immunol 2014;10:469-82.

ANTICUERPOS ANTI-NEUROPILO

Información clínica

Los anticuerpos anti-neuropilo son autoAc dirigidos frente a receptores sinápticos y proteínas de superficie asociadas a canales de K⁺ presentes en las sinapsis neuronales que forman dicha estructura (neuropilo: red de conexiones multineuronales en la sustancia gris medular y de la corteza cerebral). Se asocian con encefalitis autoinmune que se presenta con un inicio subagudo de déficit de memoria o estado mental alterado. Las encefalitis asociadas a Ac anti-neuropilo son mucho más comunes que los síndromes paraneoplásicos asociados a Ac onconeuronales intracelulares siendo detectadas en 5-10% de los casos de encefalitis.

Los Ac incluidos en la determinación de Ac anti-neuropilo son los receptores de NMDA (NMDAR), AMPA (AMPA) y GABA_B (GABA_BR) y las proteínas asociadas a canales de K⁺ LGI1 (*leucine-rich glioma inactivated 1*) CASPR2 (*contactin associated protein 2*) y DPPX (*dipeptidyl-peptidase-like protein-6*).

A diferencia de los pacientes con Ac onconeuronales, los pacientes con Ac anti-neuropilo responden bien a la terapia inmunosupresora lo que sugiere que estos autoAc pueden tener un papel patogénico directo y, por otra parte, la asociación con cáncer es variable (Tabla 1)

Tabla 1

Anticuerpo	Frecuencia cáncer	Principal tipo de cáncer
Anti-NMDAR	Variable con edad y sexo	Teratoma ovárico
Anti-AMPA	65%	Timoma, carcinoma de células pequeñas de pulmón (CCPP), mama
Anti-GABA _B R	50%	CCPP
Anti-LGI1	5-10%	Timoma
Anti-CASPR2	20-50%	Timoma
Anti-DPPX	<10%	Linfoma

Utilidad clínica

Diagnóstico de encefalitis autoinmune

Descripción del método

Inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre células transfectadas con los genes correspondientes al NMDAR1 y 2, AMPAR, GABA_BR, LGI1, CASPR2 y DPPX. El resultado final se obtiene por observación al microscopio de la presencia o ausencia de reactividad en las células transfectadas.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Líquido cefalorraquídeo.

La determinación en suero es menos sensible y específica

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo para cualquiera de los Ag presentes en el ensayo apoya fuertemente el diagnóstico de encefalitis autoinmune.

Tiempo de respuesta

10 días

Bibliografía

Graus F, Titulaer MJ, Balu R, Benseler S, Bien CG, Celluci T et al. A clinical approach to diagnosis of autoimmune encephalitis. *Lancet Neurol* 2016;15:391-404.

Chefdeville A, Honnorat J, Hampe CS and Desestret V. Neuronal central nervous system syndromes probably mediated by autoantibodies. *Eur J Neurosci* 2016;43:1535-52

ANTICUERPOS ANTI-NMDAR

Información clínica

Los Ac frente al receptor de NMDA (N-metil D-aspartato) (NMDAR) asociados a encefalitis autoinmune se dirigen contra la subunidad GluN1 y definen un cuadro clínico con características específicas. La encefalitis anti-NMDAR es la más frecuente de todas las encefalitis autoinmunes descritas hasta la fecha habiéndose reconocido como la causa más frecuente de encefalitis no infecciosa en pacientes menores de 30 años. Esta encefalitis afecta principalmente a mujeres jóvenes. Muestra una progresión de síntomas similares con inicio de un cuadro prodrómico de dolor de cabeza y fiebre baja similar a una enfermedad vírica y evolución con desarrollo de síntomas psiquiátricos (ansiedad, agitación, alucinaciones y cambios de personalidad/comportamiento) y/o síntomas neurológicos (convulsiones, desórdenes del movimiento, catatonía, alteración del estado mental, disfunción del habla y pérdida rápida de memoria a corto plazo) en pocos días o semanas.

Aproximadamente el 80% de los pacientes anti-NMDAR positivos responden a la terapia inmunosupresora. La asociación de estos autoAc con cáncer es variable dependiendo del sexo y la edad encontrándose un tumor en el 40% de los pacientes preferentemente en mujeres entre 12-45 años. Más del 90% de los tumores asociados son un teratoma ovárico mientras que la frecuencia de una neoplasia subyacente en niños y hombres es menor del 5%.

Los Ac anti-NMDAR también pueden aparecer unas pocas semanas después de una encefalitis herpética clásica lo que sugiere que la encefalitis vírica puede desarrollar a veces autoinmunidad frente al NMDAR.

Petición a solicitar

Anticuerpos anti-NMDAR y/o Ac anti-neuropilo. Se determinan simultáneamente los Ac anti-NMDAR, AMPAR, GABA_BR, LGI1, CASPR2 y DPPX

Resto requisitos/información

Ver Anticuerpos anti-neuropilo

ANTICUERPOS ANTI-AMPAR

Información clínica

Los Ac frente a los receptores de AMPA (A-aminohidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionico) (AMPAR) se han descrito principalmente en mujeres con encefalitis límbica autoinmune que podían tener una neoplasia subyacente en el timo, mama o pulmón.

Petición a solicitar: Ac anti-neuropilo. Se determinan simultáneamente los Ac anti-NMDAR, AMPAR, GABA_BR, LGI1, CASPR2 y DPPX

Resto requisitos/información

Ver Anticuerpos anti-neuropilo

ANTICUERPOS ANTI- GABABR

Información clínica

Los Ac frente a los receptores de GABA_B (ácido gamma-aminobutírico_B) (GABA_BR) se detectan en pacientes con encefalitis asociándose a convulsiones y cambios cognitivos. En algunos casos, se asocian a un tumor subyacente generalmente carcibinoma de células pequeñas de pulmón.

Petición a solicitar: Ac anti-neuropilo. Se determinan simultáneamente los Ac anti-NMDAR, AMPAR, GABA_BR, LGI1, CASPR2 y DPPX

Resto requisitos/información

Ver Anticuerpos anti-neuropilo

ANTICUERPOS ANTI-LGI1

Información clínica

El Ag de los Ac anti-LGI1 es una proteína asociada a canales de potasio dependientes de voltaje (proteína-1 inactivada del glioma rica en leucina). Los pacientes con estos autoAc son generalmente hombres que tienen predominantemente un fenotipo de encefalitis no paraneoplásica y es la segunda encefalitis en orden de prevalencia después de la encefalitis NMDAR

Petición a solicitar: Ac anti-neuropilo. Se determinan simultáneamente los Ac anti-NMDAR, AMPAR, GABA_BR, LGI1, CASPR2 y DPPX

Resto requisitos/información

Ver Anticuerpos anti-neuropilo

ANTICUERPOS ANTI-CASPR-2

Información clínica

El Ag de los Ac anti-CASPR-2 es una proteína asociada a canales de potasio dependientes de voltaje (proteína asociada a contactina). Los pacientes con estos autoAc se asocian a encefalitis y su presencia parece indicar, con mayor probabilidad, una neoplasia oculta generalmente un timoma y un peor pronóstico.

Petición a solicitar: Ac anti-neuropilo. Se determinan simultáneamente los Ac anti-NMDAR, AMPAR, GABA_BR, LGI1, CASPR2 y DPPX

Resto requisitos/información

Ver Anticuerpos anti-neuropilo

ANTICUERPOS ANTI-DPPX

Información clínica

El Ag de los Ac anti-DPPX (proteína similar a dipeptidil peptidasa) es una proteína reguladora de los canales de potasio. Los pacientes con estos Ac presentan un síndrome único entre los síndromes autoinmunes neurológicos caracterizado por la tríada de síntomas prodrómicos gastrointestinales con pérdida de peso importante, disfunción cognitiva y mental y síntomas de hiperexcitabilidad del sistema nervioso central.

Petición a solicitar: Ac anti-neuropilo. Se determinan simultáneamente los Ac anti-NMDAR, AMPAR, GABA_BR, LGI1, CASPR2 y DPPX

Resto requisitos/información

Ver Anticuerpos anti-neuropilo

ANTICUERPOS ANTI-RECEPTOR FOSFOLIPASA A2 (PLA2R)

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-receptor de fosfolipasa A2 (PLA2R) se asocian con nefropatía membranosa idiopática (NMI) presentándose en un 80-85% de los pacientes. Aproximadamente un 2-3% de los pacientes con NMI negativos para Ac anti-PLA2R presentan Ac anti-trombospondina tipo I (THSD7A). Los pacientes con NM secundaria no presentan estos autoAc.

Los niveles de los Ac anti-PLA2R se asocian con la evolución de la enfermedad por lo que su cuantificación es de utilidad en el seguimiento clínico.

Utilidad clínica

Diagnóstico y seguimiento de NMI

Solicitudes

Existen dos solicitudes según sea cribado al diagnóstico o seguimiento de la enfermedad en pacientes anti-PLA2R positivos (ver algoritmo diagnóstico):

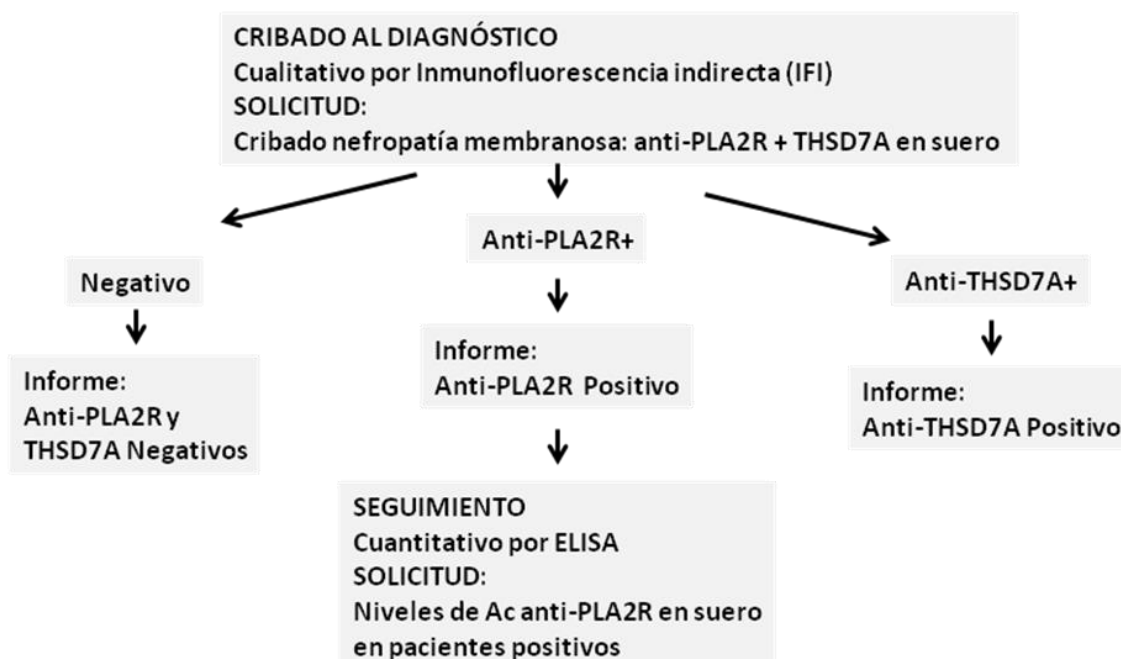
- Cribado nefropatía membranosa: anti-PLA2R + THSD7A en suero
- Niveles anti-PLA2R en suero en pacientes positivos

Descripción del método

Se utilizan dos métodos según sea cribado al diagnóstico o seguimiento de la enfermedad en pacientes anti-PLA2R positivos (ver algoritmo diagnóstico):

- Cribado al diagnóstico: Inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre células transfectadas con el gen PLA2R y sobre células sin transfectar. El resultado final es cualitativo y se obtiene por observación al microscopio de la presencia o ausencia de reactividad en las células transfectadas. Como control negativo, no hay que observar reactividad en las células sin transfectar. En el mismo ensayo, se determinan simultáneamente los Ac anti-THSD7A.
- Monitorización de los niveles de anti-PLA2R en pacientes positivos: Enzimoinmunoensayo en placa (ELISA, enzyme linked immunosorbent assay) que permite cuantificar los niveles de anti-PLA2R.

ALGORITMO DE TRABAJO EN EL DIAGNÓSTICO/SEGUIMIENTO DE LA NEFROPATÍA MEMBRANOSA



Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero. (Contenedor): Tubo de tapón rojo

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo anti-PLA2R por IFI apoya fuertemente el diagnóstico de NMI.

Los niveles de anti-PLA2R por ELISA en el seguimiento de la enfermedad se asocian con la evolución clínica.

Tiempo de respuesta

Cribado: 10 días.

Seguimiento: 15 días

Bibliografía

Stahl RA, Reinhard L, Hoxha E. Characterization of autoantibodies in primary membranous nephropathy and their clinical significance. *Exp Rev Clin Immunol* 2015;15:165-75
De Vriese AS, Glasscock RJ, Nath KA, Sethi S, Fervenza FC. A proposal for a serology-based approach to membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2017;28:421-30

ANTICUERPOS ANTI-TROMBOSPONDINA TIPO I (THSD7A)

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-trombospondina tipo I (THSD7A) se asocian con nefropatía membranosa idiopática (NMI) presentándose en aproximadamente un 2-3% de los pacientes. En la NMI, los Ac con mayor prevalencia (80-85%) son los anti-receptor de fosfolipasa A2 (PLA2R). Los pacientes con NM secundaria no presentan estos autoAc.

En modelos experimentales murinos, se ha confirmado que los Ac son patogénicos

Utilidad clínica

Diagnóstico de NMI

Solicitud

Cribado nefropatía membranosa: anti-PLA2R + THSD7A en suero

Descripción del método

Inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre células transfectadas con el gen THSD7A y sobre células sin transfectar. El resultado final es cualitativo y se obtiene por observación al microscopio de la presencia o ausencia de reactividad en las células transfectadas. Como control negativo, no hay que observar reactividad en las células sin transfectar. En el mismo ensayo, se determinan simultáneamente los Ac anti-PLA2R.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero. (Contenedor): Tubo de tapón rojo

Interpretación de los resultados

Un resultado positivo anti-THSD7A apoya el diagnóstico de NMI.

Tiempo de respuesta

10 días.

Bibliografía

Stahl RA, Reinhard L, Hoxha E. Characterization of autoantibodies in primary membranous nephropathy and their clinical significance. *Exp Rev Clin Immunol* 2015;15:165-75
Tomas NM, Hoxha E, Reinicke AT, et al. Autoantibodies against thrombospondin type 1 domain-containing 7A induce membranous nephropathy. *J Clin Invest*. 2016; 2519-32.
Tomas NM, Meyer-Schwesinger C, von Spiegel H, et al. A heterologous model of thrombospondin type 1 domain-containing 7A-associated membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2017;28:3262-77.

MONITORIZACION TERAPIA ADALIMUMAB

Información clínica

El adalimumab (ADL) es un Ac monoclonal recombinante humano utilizado en el tratamiento de varias enfermedades inflamatorias como la artritis reumatoide, artritis idiopática juvenil, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, enfermedad inflamatoria intestinal y psoriasis. El ADL es un fármaco biológico inmunomodulador que ejerce su efecto por unión al TNF α (*Tumor Necrosis Factor alpha*), citocina con un papel crítico en la patogénesis de estas enfermedades. El ADL impide que el TNF α se una a su receptor y desencadene la cascada inflamatoria.

A pesar de que la efectividad del ADL en estas enfermedades está ampliamente demostrada, existe una proporción sustancial de pacientes que no responden a la terapia anti-TNF α o que presentan efectos secundarios significativos. Los pacientes también pueden perder respuesta al tratamiento a pesar de una buena respuesta inicial. Uno de los factores que tiene mayor impacto en la farmacocinética de los biológicos anti-TNF α y por tanto, en la respuesta terapéutica, es su inmunogenicidad, es decir, la generación de Ac anti-fármaco como consecuencia del tratamiento. Estos Ac producen una disminución de los niveles de fármaco anti-TNF α a concentraciones subóptimas lo que se relaciona con la pérdida de eficacia del tratamiento.

Utilidad clínica

La monitorización de los niveles de ADL y Ac anti-ADL permite conocer más concretamente cuál puede ser la causa de la falta de respuesta al fármaco biológico y, por tanto, aplicar una terapia de forma más personalizada y efectiva. Esta monitorización también puede ser útil en pacientes con buena respuesta al ADL permitiendo la reducción de la dosis e incluso la suspensión del tratamiento.

Algoritmo diagnóstico

Inicialmente, se realizará la determinación de niveles de ADL. Se realizará la determinación de Ac anti-ADL cuando no se detecte fármaco. El algoritmo incluido a continuación es un algoritmo preliminar publicado para la optimización de la terapia anti-TNF α en pacientes con artritis reumatoide.

Adaptado de *Garcés et al. Ann Rheum Dis 2014*

Cuantificación

fármaco

Cuantificación

Ac anti-fármaco

Fármaco

detectable

Fármaco

no detectable

Ac anti-fármaco

detectables

Ac anti-fármaco

no detectables

Comprobar adherencia

terapéutica/ajuste dosis

fármaco/peso

Respuesta clínica

Sin respuesta clínica

Respuesta clínica

Sin respuesta clínica

Respuesta clínica

Sin respuesta clínica

Reevaluar diagnóstico

Mantener o

disminuir dosis
 Cambiar a un fármaco con
 distinto mecanismo de acción
 En remisión estable:
 considerar cesar la terapia
 Cambio a otro fármaco
 menos inmunogénico
 Reevaluar diagnóstico
 En remisión estable:
 considerar cesar la terapia
 Repetir tests
 Administración asistida
 del fármaco

Descripción del método

Enzimoinmunoensayos en placa (ELISA, *enzyme linked immunosorbent assay*) que permiten cuantificar los niveles de ADL y de Ac anti-ADL.

Requerimientos del paciente

Se recomienda realizar la extracción inmediatamente antes de la administración del fármaco (niveles valle) ya que la determinación en niveles valle minimiza la interferencia por fármaco y permite la correcta interpretación de los resultados.

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Niveles de Adalimumab	≤0.024 µg/mL Negativo a ADL
	>0.024 µg/mL Positivo a ADL
Niveles de Ac anti-Adalimumab	≤10 UA/mL Negativo a Ac anti-ADL
	>10 UA/mL Positivo a Ac anti-ADL

Interpretación de los resultados

Ver algoritmo diagnóstico

Tiempo de respuesta

21 días

Bibliografía

Garces S, Antunes M, Benito-Garcia E, Canas da Silva J, Aarden L, Demengeot JA. A preliminary algorithm introducing immunogenicity assessment in the management of patients with RA receiving tumpur necrosis factor inhibitor therapies. *Ann Rheum Dis* 2014;73:1138-1143.

Merola JF, Lockshin B, Mody EA. Switching biologics in the treatment of psoriatic arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 2017;47:29-37

Steenholdt C, Brynskov J, Thomsen Ø, Munck LK, Fallingborg J, Cristensen LA et al. Individualised therapy is more cost-effective than dose intensification in patients with Crohn's disease who lose response to anti-TNF treatment: a randomized, controlled trial. *Gut* 2014;63:919-27.

MONITORIZACION TERAPIA INFLIXIMAB

Información clínica

El infliximab (IFX) es un Ac monoclonal recombinante humano utilizado en el tratamiento de varias enfermedades inflamatorias como la artritis reumatoide, artritis idiopática juvenil, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, enfermedad inflamatoria intestinal y psoriasis. El IFX es un fármaco biológico inmunomodulador que ejerce su efecto por unión al TNF α (*Tumor Necrosis Factor alpha*), citocina con un papel crítico en la patogénesis de estas enfermedades. El IFX impide que el TNF α se una a su receptor y desencadene la cascada inflamatoria.

A pesar de que la efectividad del IFX en estas enfermedades está ampliamente demostrada, existe una proporción sustancial de pacientes que no responden a la terapia anti-TNF α o que presentan efectos secundarios significativos. Los pacientes también pueden perder respuesta al tratamiento a pesar de una buena respuesta inicial. Uno de los factores que tiene mayor impacto en la farmacocinética de los biológicos anti-TNF α y por tanto, en la respuesta terapéutica, es su inmunogenicidad, es decir, la generación de Ac anti-fármaco como consecuencia del tratamiento. Estos Ac producen una disminución de los niveles de fármaco anti-TNF α a concentraciones subóptimas lo que se relaciona con la pérdida de eficacia del tratamiento.

Utilidad clínica

La monitorización de los niveles de IFX y Ac anti-IFX permite conocer más concretamente cuál puede ser la causa de la falta de respuesta al fármaco biológico y, por tanto, aplicar una terapia de forma más personalizada y efectiva. Esta monitorización también puede ser útil en pacientes con buena respuesta al IFX permitiendo la reducción de la dosis e incluso la suspensión del tratamiento.

Algoritmo diagnóstico

Inicialmente, se realizará la determinación de niveles de IFX. Se realizará la determinación de Ac anti-IFX cuando no se detecte fármaco. El algoritmo incluido a continuación es un algoritmo preliminar publicado para la optimización de la terapia anti-TNF α en pacientes con artritis reumatoide.

Adaptado de **Garcés et al. Ann Rheum Dis 2014**

Cuantificación

fármaco

Cuantificación

Ac anti-fármaco

Fármaco

detectable

Fármaco

no detectable

Ac anti-fármaco

detectables

Ac anti-fármaco

no detectables

Comprobar adherencia

terapéutica/ajuste dosis

fármaco/peso

Respuesta clínica

Sin respuesta clínica

Respuesta clínica

Sin respuesta clínica

Respuesta clínica

Sin respuesta clínica

Reevaluar diagnóstico

Mantener o

disminuir dosis

Cambiar a un fármaco con
distinto mecanismo de acción
En remisión estable:
considerar cesar la terapia
Cambio a otro fármaco
menos inmunogénico
Reevaluar diagnóstico
En remisión estable:
considerar cesar la terapia
Repetir tests
Administración asistida
del fármaco

Descripción del método

Enzimoimmunoensayos en placa (ELISA, *enzyme linked immunosorbent assay*) que permiten cuantificar los niveles de IFX y de Ac anti-IFX.

Requerimientos del paciente

Se recomienda realizar la extracción inmediatamente antes de la administración del fármaco (niveles valle) ya que la determinación en niveles valle minimiza la interferencia por fármaco y permite la correcta interpretación de los resultados.

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo de tapón rojo

Valores de referencia

Niveles de Infliximab	≤0.035 µg/mL Negativo a IFX
	>0.035 µg/mL Positivo a IFX
Niveles de Ac anti-Infliximab	≤5 UA/mL Negativo a Ac anti-IFX
	>5 UA/mL Positivo a Ac anti-IFX

Interpretación de los resultados

Ver algoritmo diagnóstico

Tiempo de respuesta

21 días

Bibliografía

Garces S, Antunes M, Benito-Garcia E, Canas da Silva J, Aarden L, Demengeot JA. A preliminary algorithm introducing immunogenicity assessment in the management of patients with RA receiving tumour necrosis factor inhibitor therapies. *Ann Rheum Dis* 2014;73:1138-1143.

Merola JF, Lockshin B, Mody EA. Switching biologics in the treatment of psoriatic arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 2017;47:29-37

Steenholdt C, Brynskov J, Thomsen OØ, Munck LK, Fallingborg J, Cristensen LA et al. Individualised therapy is more cost-effective than dose intensification in patients with Crohn's disease who lose response to anti-TNF treatment: a randomized, controlled trial. *Gut* 2014;63:919-27.

ANTICUERPOS ANTI-RECEPTOR DE ACETIL COLINA

Información Clínica

Los Ac anti-receptor de acetilcolina (AChR) son marcadores serológicos de la miastenia gravis (MG). En los pacientes con estos autoAc, la debilidad y fatiga características de la enfermedad son debidas al bloqueo de los receptores lo que interrumpe la transmisión de la señal neuromuscular mediada por la Ach en la placa motora. Los Ac anti-AChR son los más prevalentes en MG presentándose en $\approx 80\%$ de los pacientes.

Utilidad clínica

Diagnóstico y seguimiento de MG

Descripción del método

Radioinmunoensayo utilizando como sustrato antigénico AChR marcado radiactivamente. El resultado final se obtiene por cuantificación de la reactividad correspondiente a los complejos Ac-AChR formados después de la incubación del suero con el Ag marcado. Para evaluar los resultados de la prueba, la respuesta de las muestras de los pacientes se compara directamente con la respuesta de los calibradores. Los resultados se expresan en nmol/mL

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo tapón rojo

Interpretación de los resultados

Se considera resultado positivo a partir de 0,20 nmol/L

Niveles superiores a 0,50 nmol/L serían indicativos de miastenia gravis.

Los valores comprendidos entre 0,20 - 0,50 nmol/L podrían ser compatibles con otras enfermedades neuromusculares o autoinmunes.

Tiempo de respuesta

5 días según indica el laboratorio externo

Bibliografía

Mantegazza R and Cavalcante P. Diagnosis and treatment of myasthenia gravis. Curr Opin Rheumatol 2019;31.DOI:10.1097

ANTICUERPOS ANTI-QUINASA ESPECÍFICA DE MÚSCULO (MUSK)

Información clínica

Los Ac anti-quinasa específica de músculo (MUSK) son marcadores serológicos de la miastenia gravis (MG). Los Ac anti-MUSK están implicados en la interrupción de la transmisión de la señal neuromuscular en la placa motora causante de los síntomas de debilidad muscular característicos de la enfermedad. Los Ac anti-MUSK se detectan en 5-8% de los pacientes con MG. Los pacientes con Ac anti-MUK presentan afectación predominantemente ocular y bulbar y peor pronóstico que los pacientes con Ac anti-AchR

Utilidad clínica

Diagnóstico y seguimiento de MG

Descripción del método

Radioinmunoensayo utilizando como sustrato antigénico MUSK marcada radiactivamente. El resultado final se obtiene por cuantificación de la reactividad correspondiente a los complejos Ac-MUSK formados después de la incubación del suero con el Ag marcado. Para evaluar los resultados de la prueba, la respuesta de las muestras de los pacientes se compara directamente con la respuesta de los calibradores. Los resultados se expresan en nmol/mL

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisitos de la muestra

Sangre/suero: Tubo tapón rojo

Interpretación de los resultados

Se considera resultado positivo a partir de 0,05 nmol/L

Tiempo de respuesta

15 días según indica el laboratorio externo

Bibliografía

Mantegazza R and Cavalcante P. Diagnosis and treatment of myasthenia gravis. Curr Opin Rheumatol 2019;31.DOI:10.1097

ANTICUERPOS ANTI-21-HIDROXILASA (21-OH)

Información clínica

La adrenalitis autoinmune o enfermedad de Addison es una rara enfermedad causada por un ataque inmunológico a la corteza suprarrenal mediado por autoanticuerpos dirigidos frente a componentes del córtex adrenal. El 80% de los pacientes presentan Ac anti-21-hidroxilasa (OH), un enzima que interviene en la síntesis de hormonas esteroideas. El diagnóstico de la enfermedad se basa en la demostración de niveles bajos de cortisol y la presencia de Ac anti-corteza suprarrenal, principalmente anti-21-OH.

Utilidad clínica

Diagnóstico de la enfermedad de Addison

Descripción del método

Enzimoinmunoensayo en placa (ELISA, *enzyme linked immunosorbent assay*) utilizando como sustrato antigénico 21-OH. El resultado final se cuantifica por lectura de la señal del producto final de la reacción enzimática. Para evaluar los resultados de la prueba, la respuesta de las muestras de los pacientes se compara directamente con la respuesta de los calibradores. Los resultados se expresan como Índice.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisito de la muestra

Sangre/suero: Tubo tapón rojo

Interpretación de los resultados

Un resultado Índice > 1 apoya el diagnóstico de E de Addison

Tiempo de respuesta

21 días según indica el laboratorio externo

Bibliografía

Dalin F, Nordling Eriksson G, Dalqvist P, Hallgren A, Wahlberg J, Ekwall O et al. Clinical and Immunological characteristics of autoimmune Addison disease: A nationwide Swedish multicenter study. J Clin Endocrinol Metab 2017;102:379-89

ANTICUERPOS ANTI-ANHIDRASA CARBONICA

Información clínica

La pancreatitis autoinmune (PAI) es una enfermedad pancreática crónica inflamatoria que responde al tratamiento con esteroides. Se asocia con otras enfermedades autoinmunes y suele cursar con autoAc e hipergammaglobulinemia. Está incluida dentro del espectro de enfermedades hiper-IgG4. La determinación de Ac anti-anhidrasa carbónica tipo II y niveles de IgG4 se utiliza en el diagnóstico diferencial entre la PAI y cáncer de páncreas.

Utilidad clínica

Diagnóstico de PAI

Descripción del método

Enzimoimmunoensayo en placa (ELISA, *enzyme linked immunosorbent assay*) utilizando como sustrato antigénico anhidrasa carbónica tipo II. El resultado final se cuantifica por lectura de la señal del producto final de la reacción enzimática. Los resultados se expresan de manera cualitativa (No se detecta, Dudoso/Límite, Positivo débil y Positivo) según la intensidad de la señal obtenida respecto a los calibradores.

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisito de la muestra

Sangre/suero: Tubo tapón rojo

Interpretación de los resultados

Un resultado POSITIVO reforzaría el diagnóstico de PAI. En casos Dudoso/Límite, se recomienda el envío de una nueva muestra en un período de 2 meses para seguir la evolución.

Tiempo de respuesta

30 días según indica el laboratorio externo

Bibliografía

Sánchez Castañón M, de las Heras-castaño G, López-Hoyos M. Autoimmune pancreatitis: an underdiagnosed autoimmune disease with clinical, imaging and serological features. *Autoimmun Rev* 2010;9:237-40.

ANTICUERPOS ANTI-INSULINA

Información clínica

Los anticuerpos (Ac) anti-insulina se asocian con diabetes mellitus tipo 1 (DM1). Junto con los Ac anti-glutámico decarboxilasa (GAD, *glutamic decarboxylase*), anti-antígeno asociado al insulinoma (IA2), anti-transportador 8 del Zinc (ZnT8) y otros cuya diana antigénica todavía no se ha identificado, forman parte de los Ac anti-isletos pancreáticos (ICA, *islet cell antibodies*).

Generalmente, los Ac anti-insulina son los primeros autoAc en aparecer en la DM1 detectándose en el 50-70% de niños al inicio de la enfermedad pero solamente en el 20-30% de pacientes de mayor edad. La determinación de los niveles de Ac en pacientes diabéticos insulino-dependientes es de utilidad en la monitorización del tratamiento ya que niveles elevados son indicativos de desarrollo de resistencia a la insulina.

Utilidad clínica

Diagnóstico de la DM1 y estudio de la resistencia al tratamiento con insulina en pacientes con DM1

Descripción del método

Radioinmunoensayo utilizando como sustrato antigénico insulina marcada radiactivamente. El resultado final se obtiene por cuantificación de la reactividad correspondiente a los complejos Ac-insulina formados después de la incubación del suero con el Ag marcado. Para evaluar los resultados de la prueba, la respuesta de las muestras de los pacientes se compara directamente con la respuesta de los calibradores. Los resultados se expresan en porcentaje de fijación

Requerimientos del paciente

Ninguno

Requisito de la muestra

Sangre/suero: Tubo tapón rojo

Interpretación de los resultados

Se considera resultado positivo cuando el porcentaje de fijación (p.f.) es superior a 8,2

Tiempo de respuesta

7 días según indica el laboratorio externo

Bibliografía

Bingley PJ. Clinical applications of diabetes antibody testing. J Clin Endocrinol Metab 2010;95:25-33.

Taplin CE, Barker JM. Autoantibodies in type 1 diabetes. Autoimmunity 2008;41:11-8.

