

GEN HLA DQ

Código interno: BM01

Metodología: PCR – hibridación con sondas específicas

Tipo de informe: Reporte de las variantes alélicas identificadas

Valores de referencia: -

Tiempo de entrega de resultado: 30 Días

Aplicación clínica:

Reproducción: Estudio de compatibilidad en parejas con factores inmunológicos asociados a fallas reproductivas del primer trimestre.

Inmunología, Inmunogenética y Transplante: Asociación con enfermedades autoinmunes; alta asociación de DQ2 y DQ8 con enfermedad celíaca; compatibilidad para transplante.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO	VOLUMEN	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES
		T° AMB	4 – 8°C	-20°C	
MUESTRA	MINIMO				TRANSPORTE
Sangre Entera ACD (amarillo)	5 ml	48 Horas	72 Horas	-	No congelar
Sangre Entera EDTA (lavanda)	5 ml	48 Horas	72 Horas	-	No congelar
PEDIATRICA Sangre Entera EDTA	3 ml	48 Horas	72 Horas	-	No congelar

Condiciones de rechazo:

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras congeladas
- Muestras coaguladas
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

ADENOVIRUS DNA

Código interno: BM04

Metodología: PCR

Tipo de informe: Cualitativo

Valores de referencia: No detectable

Tiempo de entrega de resultado: 24 – 48 Horas

Aplicación Clínica: Identificación del agente causal.

Los Adenovirus (ADV) pertenecen a una familia de 51 subtipos que se agrupan en 6 categorías de la A-F. Las infecciones aparecen en forma epidémica por brotes en diferentes épocas del año. Pueden provocar:

Infecciones del Tracto respiratorio: Se da generalmente sobre vías altas, manifestándose en faringoamigdalitis. Sobre las vías bajas producen traqueo bronquitis. Raramente son responsables de neumonías.

Infecciones del Tracto digestivo: Las infecciones producidas por Adenovirus 40 y 41, cursan con fiebre, gastroenteritis y una evolución superior a los 8 días.

Infecciones oculares: Se presentan como conjuntivitis, acompañadas a veces de faringitis, o como queratoconjuntivitis.

Infecciones del tracto génito urinario: La forma más frecuente es la cistitis hemorrágica, habiendo también casos descriptos de cervicitis y uretritis, como enfermedad de transmisión sexual.

Infecciones en el paciente inmunodeprimido: En forma ocasional, pueden afectar a estos pacientes, produciendo cuadros de neumonía o infección generalizada o miocarditis.

Infecciones neurológicas: Puede en ciertas oportunidades provocar meningitis o encefalitis.

La muestra debe guardar relación con el cuadro clínico que presenta el paciente, siendo la detección en suero o sangre entera, reservada como factor pronóstico alternativo.

A pesar de no tener un tratamiento específico, como otras infecciones virales, su detección rápida es fundamental para evitar brotes, epidemias y tratamientos antibióticos

Si bien el cultivo viral se considera el "Gold Standard", la realidad es que muchos subtipos son no cultivables y además pueden tardar entre 10 a 20 días en desarrollar, los cultivos rápidos permiten disminuir este tiempo a 48-72 horas, pero con menor sensibilidad. Por otra parte, la gran variedad de subtipos, la prevalencia y la posibilidad de reinfección convierte a la serología en poco útil para su estudio.

Las pruebas de detección de antígenos por IFI o EIA, tienen la ventaja de ser rápidas y específicas pero carecen de sensibilidad tanto para infecciones del tracto respiratorio, como gastrointestinales.

La PCR permite la detección de la mayoría de los diferentes subtipos, ya que existen primers consenso para la detección de los 51 subtipos, además de otras variantes genómicas del virus. Es la técnica de elección por presentar mejor sensibilidad y permitir la detección de la mayoría de los diferentes tipos de ADV.

La incorporación de la metodología de PCR en Tiempo Real es una mejora sustancial en la detección de estos virus, ya que además de rapidez posibilita la cuantificación.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de MUESTRA	VOLUMEN MINIMO	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES TRANSPORTE
		T° AMB	4 – 8°C	-20°C	
Sangre Entera ACD (amarillo)	5 ml	48 Horas	72 Horas	-	No congelar
Sangre Entera EDTA (lavanda)	5 ml	48 Horas	72 Horas	-	No congelar
Suero	1 ml			2 meses	Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
LCR	1 ml	2 Horas	24 Horas-	2 meses	Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Secreción respiratoria Líquido pleural	1 ml	2 Horas	24 Horas-	2 meses	Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Materia fecal	3-5 g	2 Horas	72 Horas	1 semana	De acuerdo a la estabilidad
Orina	5 - 10 ml	2 Horas	24 Horas-	2 meses	Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Secreción conjuntival	Hisopo en buffer de lisis	1 semana	1 semana	-	No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio

IMPORTANTE: el laboratorio entrega a quien lo solicite, el Buffer de Lisis adecuado destinado a preservar correctamente la muestra obtenida, a fin de conservarla durante 1 semana a temperatura ambiente o a 4°C, evitando así problemas de degradación durante el transporte y envío.

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras coaguladas
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

CHLAMYDIA *pneumoniae* DNA

Código interno: BM05

Metodología: PCR

Tipo de informe: Cualitativo

Valores de referencia: No detectable

Tiempo de entrega de resultado: 3 Días

Aplicación Clínica: Identificación del agente causal.

Es un patógeno común en infecciones del tracto respiratorio, que también ha sido asociado con la enfermedad de arterias coronarias, infarto de miocardio y a la endocarditis infecciosa con cultivos negativos, habiéndose demostrado su presencia en lesiones ateroscleróticas.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de MUESTRA	VOLUMEN MINIMO	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES
		T° AMB	4 – 8°C	-20°C	TRANSPORTE
Secreción respiratoria Líquido pleural Lavado broncoalveolar Aspirado endotraqueal	1 ml	8 Horas	72 Horas-	1 mes	Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Biopsia	-	2 Horas	72 Horas	2 meses	No congelar. Seguir las instrucciones del buffer provisto por el laboratorio

IMPORTANTE:

BUFFER PARA PRESERVACION: el laboratorio entrega a quien lo solicite, el Buffer adecuado destinado a preservar correctamente la muestra obtenida, a fin de conservarla durante 1 semana a temperatura ambiente o a 4°C, evitando así problemas de degradación durante el transporte y envío.

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

CHLAMYDIA *psittaci* DNA

Código interno: BM07

Metodología: PCR

Tipo de informe: Cualitativo

Valores de referencia: No detectable

Tiempo de entrega de resultado: 5 Días

Aplicación Clínica: Identificación del agente causal.

Es una bacteria transmitida a los humanos por las aves, responsable de infecciones en las vías aéreas bajas, que provoca síntomas similares a Influenza, pero que pueden llevar a neumonías severas. Si bien existen varios métodos diagnósticos recomendados, es la PCR la metodología de elección para diferenciar *Chlamydia psittaci* de *pneumoniae* y *trachomatis*.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de MUESTRA	VOLUMEN MINIMO	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES TRANSPORTE
		T° AMB	4 – 8°C	-20°C	
Secreción respiratoria Espudo Líquido pleural Lavado broncoalveolar	1 ml	8 Horas	72 Horas-	1 mes	Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Coagulo		24 Horas	24 Horas	-	No congelar – Tiene utilidad sólo en la etapa aguda de la infección

IMPORTANTE:

BUFFER PARA PRESERVACION: el laboratorio entrega a quien lo solicite, el Buffer adecuado destinado a preservar correctamente la muestra obtenida, a fin de conservarla durante 1 semana a temperatura ambiente o a 4°C, evitando así problemas de degradación durante el transporte y envío.

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

HEPATITIS B VIRUS DNA

Código interno: BM08

Metodología: PCR

Tipo de informe: Cualitativo

Valores de referencia: No detectable

Tiempo de entrega de resultado: 3-5 días

Aplicación Clínica: Identificación del DNA del agente causal de la hepatitis a Virus B.

El DNA puede ser detectado aún en ausencia del HBsAg e indicar la persistencia de bajos niveles de replicación.

El encuadre certero de la etapa de la infección es crítico para evaluar la infectividad, riesgo de transmisión y pronóstico del individuo afectado, fundamentalmente en aquellas personas que presentan marcadores serológicos confusos.

Enfermedad aguda: HBV DNA puede estar presente durante la etapa aguda, aún cuando el paciente haya hecho el clearance de HBsAg, encontrándose tanto en estado latente como con niveles muy bajos de replicación viral.

Transplante: La búsqueda de HBV DNA es utilizada para la detección de potencial transmisión de de enfermedad en futuros donantes y como monitoreo post-transplante.

Embarazo: La detección durante el embarazo de DNA es particularmente importante para prevenir y evitar la transmisión vertical en aquellos hijos de madres infectadas, con DNA viral en replicación.

Recién nacidos y niños: Tienen un riesgo elevado de desarrollar Hepatitis B crónica si son expuestos al virus y deben ser monitoreados con marcadores específicos

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de MUESTRA	VOLUMEN MINIMO	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES TRANSPORTE
		T° AMB	4 – 8°C	-20°C	
Plasma EDTA K2 (lavanda)	3 ml	3 días	7 días	2 meses	Es recomendable separar la muestra dentro de las 4 horas de efectuada la extracción y congelar a -20°C.
Biopsia	Colocar en buffer de preservación	1 semana	1 semana	-	No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio

IMPORTANTE: el laboratorio entrega a quien lo solicite, el Buffer de Lisis adecuado destinado a preservar correctamente la muestra obtenida, a fin de conservarla durante 1 semana a temperatura ambiente o a 4°C, evitando así problemas de degradación durante el transporte y envío.

La estabilidad de la muestra está condicionada al uso de dicho Buffer.

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras de sangre entera o médula ósea congeladas
- Muestras coaguladas sin separar.
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

HEPATITIS C VIRUS RNA DETECCION CUALITATIVA

Código interno: BM09

Metodología: RT – PCR - Nested

Tipo de informe: Cualitativo

Valores de referencia: No detectable

Sensibilidad: 10 copias RNA/ml

Tiempo de entrega de resultado: 7 días

Aplicación Clínica: La detección de HCV por técnicas moleculares se utiliza actualmente tanto en el diagnóstico como en el monitoreo de respuesta al tratamiento.

En diagnóstico, la indicación más frecuente es como estudio confirmatorio de la infección por Virus C. Es de particular ayuda para descartar falsos positivos en serologías de pacientes con ALT dentro de valores normales y sin factores de riesgo conocidos. También se utiliza en aquellos individuos con antecedentes de anticuerpos antinucleares positivos o procesos autoinmunes, que pueden interferir en los resultados serológicos.

El RNA de HCV es detectado en la fase temprana de la infección, precediendo y/o coincidiendo con la primera elevación significativa de ALT. El RNA generalmente declina después del pico de ALT. En enfermedad crónica, la viremia puede ser intermitente, por lo que un resultado negativo obtenido por RT PCR no significa que la infección se haya resuelto en forma definitiva. Los niveles de RNA durante esta fase suelen mantenerse mucho más bajos que en la etapa aguda de la enfermedad. La desaparición espontánea de la viremia y de los anticuerpos específicos es un hecho infrecuente, que de darse, debe ser reevaluado.

Un resultado negativo para RNA en un paciente con anticuerpos, indica un riesgo bajo de transmisión.

La detección en semen de HCV por RT PCR, es utilizada también en Reproducción Asistida para prevención de la transmisión en parejas serodiscordantes.

En cuanto a monitoreo terapéutico, la detección cualitativa de RNA por RT PCR Nested, es utilizada para evaluar la respuesta al tratamiento en una etapa temprana del mismo y posteriormente para confirmar la eficacia una vez completado totalmente.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de MUESTRA	VOLUMEN	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES
		° AMB	4 – 8°C	20°C	
Plasma EDTA K2 (lavanda)	3 ml			2 meses	Separar el plasma dentro de las 2 Hs de extraído. Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Suero	3 ml			2 meses	Separar el plasma dentro de las 2 Hs de extraído. Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Sangre entera en tubos BD Vacutainer PPT	3 ml	3 días	3 días		Ver instructivo para utilización de tubos BD PPT
Biopsia	Colocar en buffer de preservación	1 semana	1 semana		No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio

INSTRUCCIONES PARA LA UTILIZACION DE TUBOS BD VACUTAINER PPT

- Los tubos PPT poseen una barrera de gel para la separación de plasma durante la centrifugación, que evita la manipulación de la muestra y facilita su envío a laboratorios de procesamiento.
- Los tubos deben conservarse hasta su uso a temperatura ambiente (18 a 25°C)
- Colocar 5 ml de la sangre extraída dentro de los tubos PPT.
- Invertir el tubo de 8 a 10 veces para homogeneizar la muestra.
- Dejar reposar el tubo con la muestra homogeneizada, en forma vertical sobre la mesada hasta la centrifugación.
- Las muestras deben ser centrifugadas dentro de las 2 horas de efectuada la extracción.
- Centrifugar los tubos PPT a temperatura ambiente, de 10 a 15 minutos a 1100 RCF.
- No congelar, mantener entre 4 y 10° C. Enviar sin remover el plasma en un lapso no mayor de 5 días.

IMPORTANTE: el Laboratorio entrega a quien lo solicite:

- **Tubos Vacutainer PPT** para una correcta conservación de la muestra en el caso de no ser posible la centrifugación y separación del plasma dentro de las 2 horas recomendadas, evitando así la degradación durante el transporte.

- **Buffer de Lisis** adecuado destinado a preservar correctamente la muestra obtenida, a fin de conservarla durante 1 semana a temperatura ambiente o a 4°C, evitando así problemas de degradación durante el transporte y envío.

La estabilidad de la muestra está condicionada al uso de dicho Buffer.

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras de sangre entera congeladas
- Muestras coaguladas sin separar.
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

CITOMEGALOVIRUS DNA

Código interno: BM14

Metodología: NESTED PCR

Tipo de informe: Cualitativo

Valores de referencia: No detectable

Tiempo de entrega de resultado: 24 – 48 Horas

Aplicación Clínica: Identificación del agente causal.

La infección a Citomegalovirus cursa generalmente en forma asintomática en niños y adultos inmunocompetentes.

Está asociado a hepatitis, neumonía o a mononucleosis-like, con faringitis o adenopatías y anticuerpos heterófilos negativos.

Impacto de acuerdo a la vía de transmisión:

Transmisión vertical o perinatal: La primoinfección durante el embarazo puede ocasionar en el hijo, anomalías congénitas como hepatoesplenomegalia, daño ocular o retardo mental, dependiendo del momento de la infección de la madre y de la posibilidad de transmisión.

Transfusiones: Los individuos seronegativos especialmente aquellos inmunocomprometidos, poseen un alto riesgo de infectarse con CMV y desarrollar la enfermedad al ser transfundidos con sangre no testada convenientemente.

Transplante: Aquellos pacientes con alteraciones de la inmunidad, tratamiento oncológico, receptores de órganos, deben ser chequeados y monitoreados según criterio clínico.

Las metodologías recomendadas para el diagnóstico y monitoreo terapéutico en pacientes con compromiso inmunológico son el cultivo de CMV y la detección por PCR, siendo ésta última la de elección dada su rapidez para la obtención del resultado y la sensibilidad de la técnica.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de MUESTRA	VOLUMEN MINIMO	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES TRANSPORTE
		T° AMB	4 – 8°C	-20°C	
Sangre Entera EDTA K2 (lavanda)	5 ml	8 Horas	72 Horas	-	No congelar
Médula ósea EDTA K2 (lavanda)	2 ml	8 Horas	72 Horas	-	No congelar
LCR	1 ml	2 Horas	24 Horas-	2 meses	Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Orina	1 ml	2 Horas	24 Horas-	2 meses	Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Líquido Amniótico	1 ml	2 Horas	24 Horas-	2 meses	Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Biopsia	Colocar en buffer de preservación	1 semana	1 semana	-	No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio
Fluido ocular / Humor vítreo	Colocar en buffer de preservación	1 semana	1 semana	-	No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio
Secreciones respiratorias	Colocar en buffer de preservación	1 semana	1 semana	-	No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio

IMPORTANTE: el laboratorio entrega a quien lo solicite, el Buffer de Lisis adecuado destinado a preservar correctamente la muestra obtenida, a fin de conservarla durante 1 semana a temperatura ambiente o a 4°C, evitando así problemas de degradación durante el transporte y envío.
La estabilidad de la muestra está condicionada al uso de dicho Buffer.

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras de sangre entera o médula ósea congeladas
- Muestras coaguladas
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

HERPES SIMPLEX VIRUS - DNA

Código interno: BM15

Metodología: PCR

Tipo de informe: Cualitativo

Valores de referencia: No detectable

Tiempo de entrega de resultado: 24 – 48 Horas

Aplicación Clínica: Identificación del agente causal en infección aguda

Existen dos tipos de Herpes Simplex, tipo 1(HSV1) y tipo 2 (HSV2), ambos poseen la característica de infectar el epitelio, produciendo lesiones dérmicas y además una marcada afinidad por el sistema nervioso central. Las detecciones específicas de cada uno de los tipos, han puesto de manifiesto el rol del Herpes tipo 2 con un aumento en las detecciones del mismo en LCR de pacientes pertenecientes a grupos sexualmente activos y como consecuencia, un incremento de herpes neonatal y las meningoencefalitis herpéticas causados por el mismo agente, definiéndolo en numerosos trabajos como la más importante causa de meningitis linfocítica benigna recurrente.

Al igual que el resto de la familia *Herpesviridae*, los Herpes simplex se caracterizan por permanecer latentes y por tal motivo pueden producir reactivaciones secundarias, las que tienen particular importancia en los huéspedes inmunocomprometidos

Los estudios serológicos tienen utilidad en estudios epidemiológicos, para evaluar prevalencia de las infecciones en diferentes poblaciones, pero son de escaso rédito en el encuadre clínico.

El diagnóstico de la infección por Herpes simplex tanto sean HSV1 o HSV2, se efectúa a través de la búsqueda del virus en las lesiones o en los diferentes fluidos. Esto puede realizarse mediante técnicas de cultivo, detección de antígeno o por técnicas moleculares.

Las técnicas moleculares poseen ventajas comparativas, son más sensibles, más rápidas y más específicas que las técnicas convencionales, siendo la detección de ADN viral en líquido cefalorraquídeo la metodología de elección en el diagnóstico de encefalitis / meningitis herpética. No obstante esto, debe tenerse en cuenta que los resultados por PCR en LCR, pueden ser negativos en aproximadamente un 25 % de aquellas muestras tomadas de pacientes con más de tres días de evolución de la enfermedad.

La detección de DNA viral por PCR está indicada para:

Diagnóstico rápido de encefalitis herpética, pacientes con meningitis recurrentes, recién nacidos con sospecha de herpes neonatal con cultivos negativos en LCR o aspirado nasofaríngeo y pacientes inmunocomprometidos.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de MUESTRA	VOLUMEN MINIMO	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES TRANSPORTE
		T° AMB	4 – 8°C	-20°C	
Sangre Entera EDTA K2 (lavanda)	5 ml	8 Horas	72 Horas	-	No congelar
Plasma c/ EDTA K2 (lavanda)	1 ml	2 Horas	24 Horas	1 Semana	Separar el plasma dentro de las 2 Hs de extraído. Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Médula ósea EDTA K2 (lavanda)	2 ml	8 Horas	72 Horas	-	No congelar
LCR	1 ml	2 Horas	24 Horas-	2 meses	No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio DE NO CONTAR CON BUFFER: Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Biopsia	Colocar en buffer de preservación	1 semana	1 semana	-	No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio
Hisopado de lesiones dérmicas	Colocar en buffer de preservación	1 semana	1 semana		No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio
Fluido ocular / Humor vítreo, Humor acuoso	Colocar en buffer de preservación	1 semana	1 semana	-	No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio

IMPORTANTE: el laboratorio entrega a quien lo solicite, el Buffer de Lisis adecuado destinado a preservar correctamente la muestra obtenida, a fin de conservarla durante 1 semana a temperatura ambiente o a 4°C, evitando así problemas de degradación durante el transporte y envío.
La estabilidad de la muestra está condicionada al uso de dicho Buffer.

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras de sangre entera o médula ósea congeladas
- Muestras coaguladas
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

MYCOBACTERIUM *tuberculosis* complex (TBC) DNA

Código interno: BM 20

Metodología: NESTED PCR

Tipo de informe: Cualitativo

Valores de referencia: No detectable

Tiempo de entrega de resultado: 48 - 72 Horas

Aplicación Clínica: Identificación del agente causal.

Todos los componentes descritos del complejo Mycobacterium tuberculosis (TBC) (M. Africanum, M. bovis, M. canneti, M. microti y M. tuberculosis) son considerados como agente causal de tuberculosis.

La epidemiología de la tuberculosis varía en las diferentes regiones y dentro de estas entre los distintos grupos de pacientes (niños, inmunocompetentes o inmunocomprometidos).

El diagnóstico de la infección por Mycobacterium *tuberculosis* en tracto respiratorio inferior, se realiza a través de las metodologías tradicionales tales como: Observación microscópica: **Ziehl-Neelsen (ZN)** o **Fluorescencia con Auramina**: Las técnicas ofrecen la ventaja de la rapidez, pero son poco sensibles, aproximadamente 50-60% en tracto respiratorio y requiere alrededor de 5000-10.000 ufc/ul.

El **cultivo en medio sólido** es el "Gold Standard", pero presenta el inconveniente del tiempo para el desarrollo, que oscila entre 30 a 40 días.

El **cultivo en medio líquido**: Es de elección ya que presenta una sensibilidad similar al medio sólido y reduce el tiempo de detección a 10 a 14 días. Ambos cultivos detectan aproximadamente de 10-100 ufc/ul.

Las técnicas moleculares no son de elección para muestras del tracto respiratorio inferior, pero si aportan en algunas situaciones en particular. En aquellas muestras ZN negativas, la PCR puede detectar el 50% de estas antes de esperar el cultivo, si bien por esta baja sensibilidad, las técnicas moleculares sólo están aprobadas para ser utilizadas en muestras respiratorias y con ZN positivo, en estos casos sólo tendría la utilidad de diferenciar entre Mycobacterium complex (típicas) o Mycobacterium avium-complex (MAC) (atípicas).

Otra situación donde las técnicas moleculares pueden cumplir un rol importante, es en el diagnóstico de tuberculosis extra pulmonares, estudiando líquidos estériles, especialmente en meningitis tuberculosa o biopsias. Si bien, como fue dicho previamente las técnicas moleculares no están aprobadas para su utilización en estos materiales, la baja sensibilidad de los exámenes directos (microscopía) y cultivo, sumado al tiempo de desarrollo, las convierten en una herramienta más para la práctica diaria.

Para la correcta utilización de dichas técnicas en estos materiales es fundamental considerar: Volumen de muestra a estudiar, Tipo de muestra (LCR, sangre entera, plasma, suero, otros fluidos), la evaluación de controles internos y externos dentro del laboratorio y realizar una interpretación de los resultados dentro del contexto clínico y epidemiológico de cada paciente.

En conclusión las técnicas moleculares pueden hacer un aporte al diagnóstico de Mycobacterium tuberculosis complex sólo en situaciones especiales y teniendo en cuenta los recaudos necesarios para una correcta interpretación.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de MUESTRA	VOLUMEN MINIMO	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES TRANSPORTE
		T° AMB	4 – 8°C	-20°C	
Secreciones respiratorias	Colocar en buffer de preservación	1 semana	1 semana	-	No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio
LCR	1 ml	2 Horas	24 Horas-	2 meses	Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Sangre Entera EDTA K2 (lavanda)	5 ml	8 Horas	72 Horas	-	No congelar

Biopsia	Colocar en buffer de preservación	1 semana	1 semana	-	No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio
Otros Fluidos	Colocar en buffer de preservación	1 semana	1 semana	-	No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio
Médula ósea EDTA K2 (lavanda)	2 ml	8 Horas	72 Horas	-	No congelar

IMPORTANTE: el laboratorio entrega a quien lo solicite, el Buffer de Lisis adecuado destinado a preservar correctamente la muestra obtenida, a fin de conservarla durante 1 semana a temperatura ambiente o a 4°C, evitando así problemas de degradación durante el transporte y envío.
La estabilidad de la muestra está condicionada al uso de dicho Buffer.

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras de sangre entera o médula ósea congeladas
- Muestras coaguladas
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

ENTEROVIRUS DETECCION DE RNA (Polio-Echo-Coxsackie)

Código interno: BM25

Metodología: RT-PCR

Tipo de informe: Cualitativo

Valores de referencia: No detectable

Tiempo de entrega de resultado: 24 – 48 Horas

Aplicación Clínica: Identificación del agente causal.

Basado en la secuencia de la región VP1 y VP4, se han descrito más de 70 especies de Enterovirus Humanos (HEV) pertenecientes a la familia *Picornaviridae*, clasificados en 5 especies que incluyen: EVH, Poliovirus, Coxsackie virus A y B, Echovirus y EV-69 y 73.

Los Enterovirus dan lugar a una amplia gama de signos asociados a diferentes desordenes y patologías, desde diarrea, infección neonatal, herpangina, miocarditis, meningitis, meningitis asépticas, encefalitis, enfermedad mano-boca y otras. La infección se da principalmente en niños y adultos jóvenes y en el período de verano-otoño.

El diagnóstico etiológico de la infección por EV es dificultoso por los motivos antes enunciados, varias patologías, varios virus muchos de ellos no cultivables o de difícil desarrollo, lo que hace que las metodologías habituales de cultivo, detección de anticuerpos y antígenos sean de muy poca utilidad. A raíz de ello las técnicas moleculares cumplen un rol fundamental en el diagnóstico y conocimiento de la epidemiología de los EV, ya que permiten la detección de la mayoría de los EV asociados a patologías importantes en humanos, en particular aquellas que afectan el sistema nervioso central (SNC).

La detección de EV en LCR por RT-PCR permite el diagnóstico rápido, con una sensibilidad de 10 copias y una especificidad >96%, evitando tratamiento antibiótico innecesario, estudios complementarios y prolongados tiempos de internación en especial en niños menores de 1 año de edad.

La conservación de la muestra es fundamental, ya que al ser un virus RNA se degrada fácilmente, por lo tanto es esencial el envío rápido al laboratorio siguiendo rigurosamente las indicaciones sobre transporte y conservación.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de MUESTRA	VOLUMEN MINIMO	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES TRANSPORTE
		T° AMB	4 – 8°C	-20°C	
LCR	1 ml	2 Horas	24 Horas-	1 semana	Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Plasma c/ EDTA K2 (lavanda)	1 ml	2 Horas	24 Horas	1 Semana	Separar el plasma dentro de las 2 Hs de extraído. Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Suero	1 ml	2 Horas	24 Horas	1 Semana	Separar el suero dentro de las 2 Hs de extraído. Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad

IMPORTANTE: En caso de no poder efectuar el envío de la muestra en forma inmediata al laboratorio, consulte las indicaciones para el uso del Buffer de Lisis a fin de no alterar la integridad de la muestra. El laboratorio entrega a quien lo solicite, el Buffer de Lisis adecuado destinado a preservar correctamente la muestra obtenida, a fin de conservarla durante 1 semana a temperatura ambiente o a 4°C, evitando así problemas de degradación durante el transporte y envío.

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras de sangre entera o médula ósea congeladas
- Muestras coaguladas
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

HERPES HUMAN VIRUS 6 (HHV-6) DNA

Código interno: BM 26

Metodología: NESTED PCR

Tipo de informe: Cualitativo

Valores de referencia: No detectable

Tiempo de entrega de resultado: 24 – 48 Horas

Aplicación Clínica: Identificación del agente causal.

El HHV-6 pertenece a la familia *Herpesviridae*, subfamilia de los β - Herpesvirus. Existen dos variantes relacionadas, el HHV6 A y el HHV6 B. Infecta a linfocitos T y Monocitos, a través del CD46, presentando como característica la de ser neurotrópico y producir síndromes linfoproliferativos.

La infección ocurre en los primeros años de vida, habitualmente en forma asintomática, en algunos casos se manifiesta produciendo el denominado Exantema Súbito o sexta enfermedad.

En huéspedes inmunosuprimidos y HIV, la infección o reactivación del HHV-6 puede producir neumonía, alteraciones en médula ósea, encefalitis, hepatitis, fiebre, rash cutáneo y en algunos casos rechazo del trasplante.

La detección serológica no es utilizada habitualmente, salvo en casos de sospecha de primoinfección o en niños, no siendo la metodología recomendada en casos de inmunodeficiencias.

El estudio y seguimiento del huésped inmunocomprometido debe realizarse con técnicas moleculares, ya que el cultivo es lento y complejo. La detección cualitativa del ADN viral tiene muy bajo valor predictivo positivo (50-60%), pero un alto valor predictivo negativo. La cuantificación de ADN viral con técnicas de PCR en tiempo real, permite realizar un diagnóstico y seguimiento mucho más específico, y si bien no existen valores consensuados de corte que permitan definir situaciones, se monitorea de acuerdo a la cinética viral. También es recomendada la realización de RT-PCR para determinar la actividad viral en caso de no poder acceder a la cuantificación de DNA.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de MUESTRA	VOLUMEN MINIMO	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES TRANSPORTE
		T° AMB	4 – 8°C	-20°C	
Sangre Entera EDTA K2 (lavanda)	5 ml	8 Horas	24 Horas	-	No congelar
Plasma c/ EDTA K2 (lavanda)	1 ml	2 Horas	4 Horas	2 meses	Separar el plasma dentro de las 2 Hs de extraído. Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
LCR	1 ml	2 Horas	4 Horas	2 meses	Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Biopsia	Colocar en buffer de preservación	1 semana	1 semana	-	No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio
Fluido	Colocar en buffer de preservación	1 semana	1 semana	-	No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio
Secreciones respiratorias	Colocar en buffer de preservación	1 semana	1 semana	-	No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio

IMPORTANTE: el laboratorio entrega a quien lo solicite, el Buffer de Lisis adecuado destinado a preservar correctamente la muestra obtenida, a fin de conservarla durante 1 semana a temperatura ambiente o a 4°C, evitando así problemas de degradación durante el transporte y envío.
La estabilidad de la muestra está condicionada al uso de dicho Buffer.

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras de sangre entera o médula ósea congeladas
- Muestras coaguladas
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

EPSTEIN BARR VIRUS DNA (HUMAN HERPES VIRUS 4)

Código interno: BM 29

Metodología: NESTED PCR

Tipo de informe: Cualitativo

Valores de referencia: No detectable

Tiempo de entrega de resultado: 24 – 48 Horas

Aplicación Clínica: Identificación del agente causal.

El Virus Epstein Barr, miembro de la familia *Herpesviridae*, es un virus DNA que permanece en estado de latencia con persistencia en linfocitos B de memoria, pudiendo reactivarse en particular en el huésped inmunocomprometido

La infección por EBV ocurre en los primeros años de la vida, habitualmente en forma asintomática. Más del 90% de las personas en el mundo se encuentran infectadas.

La infección en el adulto, especialmente adulto joven, produce Mononucleosis infecciosa, que puede asociarse a veces con hepatitis secundaria. Si bien la carga viral es similar tanto en pacientes sintomáticos como asintomáticos durante la primoinfección, existe un aumento considerable en el número de Linfocitos T y en la producción de citoquinas en aquellos pacientes sintomáticos, que expresan por ejemplo: fiebre alta, faringitis, linfadenopatías, astenia, esplenomegalia, etc. Por otra parte, las formas de presentación que pueden causar infección crónica activa, relacionan al EBV con la Enfermedad linfoproliferativa post trasplante (ELPT) (PTLD), el carcinoma Nasofaríngeo, Linfoma de Burkitt y Linfoma de Hodgkin

En el huésped inmunocompetente el diagnóstico de Mononucleosis Infecciosa se realiza a través de estudios serológicos, con la detección de anticuerpos heterófilos, aunque los mismos son detectables hasta cierto punto o pueden estar presentes por varios meses después de la infección aguda o a veces cruzar con otros agentes como CMV HHV 6 o con Toxoplasma. Por esta razón se recomienda efectuar la detección de anticuerpos específicos para encuadrar adecuadamente la infección, sea aguda o crónica.

En la fase aguda de la infección por EBV, aparecen en forma secuencial Anticuerpos IgM e IgG contra Antígeno Temprano (EA Early Antigen), Anticuerpos IgM e IgG contra Antígenos de la Cápside Viral (VCA Viral Cápside Antigen) y Anticuerpos IgM e IgG contra Antígenos Nucleares (EBNA Epstein Barr Nuclear Antigens). De modo que tanto la presencia de Anticuerpos IgM o IgG contra EA, combinado con IgM positiva contra VCA y bajos títulos y aumentos paulatinos de Anticuerpos contra EBNA, son indicativos de infección aguda. Los Anticuerpos IgM anti VCA pueden estar presentes hasta dos meses después de la infección.

En la infección crónica activa, el patrón de anticuerpos incluye la presencia persistente de IgM contra VCA y frecuentemente un título alto de IgG contra VCA y EA, con ausencia total de EBNA y altos niveles de DNA en plasma.

En el huésped inmunocomprometido, en cambio, las pruebas serológicas no son relevantes y debe recurrirse a estudios moleculares de detección y cuantificación del DNA viral.

La enfermedad linfoproliferativa post trasplante, en particular en el trasplante de médula ósea, tiene una alta mortalidad y la forma de prevenirla o tratarla adecuadamente es a través del seguimiento del paciente transplantado con la cuantificación del virus de EBV en diferentes muestras.

La detección cualitativa en este marco, sólo tiene valor predictivo negativo, ya que un resultado positivo no permite predecir con certeza la enfermedad, aunque si alertar sobre la necesidad de seguimiento con Carga Viral

Otra de las situaciones donde la detección de DNA viral es de elección es en la infección de Sistema Nervioso Central (SNC) en el huésped inmunocomprometido, en particular el paciente HIV positivo.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de MUESTRA	VOLUMEN MINIMO	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES
		T° AMB	4 – 8°C	-20°C	TRANSPORTE
Sangre entera en tubos BD Vacutainer PPT	5 ml	5 Días	5 días	-	Ver instructivo para utilización de tubos BD PPT

Sangre Entera EDTA K2 (lavanda)	5 ml	8 Horas	72 Horas	-	No congelar
Plasma c/ EDTA K2 (lavanda)	3 ml	2 Horas	24 Horas	6 meses	Separar el plasma dentro de las 2 Hs de extraído. Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar a -20°C.
Médula ósea EDTA K2 (lavanda)	1 ml	8 Horas	72 Horas	-	No congelar
LCR	1 ml	2 Horas	24 Horas-	2 meses	Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Biopsia	Colocar en buffer de preservación	1 semana	1 semana	-	No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio
Fluido sinovial, Humor vítreo, Lavado broncoalveolar	1 ml	8 Horas	72 Horas	6 meses	Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad

INSTRUCCIONES PARA LA UTILIZACION DE TUBOS BD VACUTAINER PPT

- Los tubos PPT poseen una barrera de gel para la separación de plasma durante la centrifugación, que evita la manipulación de la muestra y facilita su envío a laboratorios de procesamiento.
- Los tubos deben conservarse hasta su uso a temperatura ambiente (18 a 25°C)
- Colocar 5 ml de la sangre extraída dentro de los tubos PPT.
- Invertir el tubo de 8 a 10 veces para homogeneizar la muestra.
- Dejar reposar el tubo con la muestra homogeneizada, en forma vertical sobre la mesada hasta la centrifugación.
- Las muestras deben ser centrifugadas dentro de las 2 horas de efectuada la extracción.
- Centrifugar los tubos PPT a temperatura ambiente, de 10 a 15 minutos a 1100 RCF.
- No congelar, mantener entre 4 y 10° C. Enviar sin remover el plasma en un lapso no mayor de 5 días.

IMPORTANTE: Para evitar la degradación de las muestras, el Laboratorio entrega a quien lo solicite:

1. Tubos Vacutainer PPT para una correcta conservación de la muestra en el caso de no ser posible la centrifugación y separación del plasma dentro de las 2 horas recomendadas.
2. Buffer de Lisis adecuado destinado a preservar correctamente la muestra obtenida, a fin de conservarla durante 1 semana a temperatura ambiente o a 4°C.

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras de sangre entera o médula ósea congeladas
- Muestras coaguladas
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

HEPATITIS C VIRUS - GENOTIPIFICACION

Código interno: BM37

Metodología: RT – PCR - Nested – SECUENCIACION AUTOMATICA – ANALISIS FILOGENETICO

Tipo de informe: Detalle del genotipo hallado – Análisis filogenético

Valores de referencia: -

Sensibilidad: 10 copias RNA/ml para RT-PCR-NESTED

Tiempo de entrega de resultado: 15 días

Aplicación Clínica: La Genotipificación de HCV se utiliza posteriormente al diagnóstico molecular a fin de diseñar la duración del esquema terapéutico, debido fundamentalmente a la diferencia de respuesta obtenida en función del genotipo hallado.

La terapia prolongada, 48 semanas, está indicada en aquellos pacientes portadores de genotipo 1, mientras que la terapia breve, de 24 semanas, es asignada a portadores de los genotipos 2 y 3.

Hasta la fecha, se han diferenciado claramente por análisis de secuencia, 6 clades o grupos mayores, llamados genotipos, compuestos a su vez de subgrupos. Los genotipos nominados como 7, 8 y 9, son actualmente subtipos del genotipo 6. La prevalencia de los diferentes genotipos está definida geográficamente

La Detección Cualitativa (RT PCR Nested) junto a la Detección Cuantitativa (Carga Viral de Virus C) y al Genotipo son indicadas para el diagnóstico y diseño de la estrategia terapéutica, pero no hay parámetros definidos para evaluar y predecir el daño hepático. La influencia del genotipo sobre la evolución de la enfermedad no está aún establecida y los datos son controvertidos. Sin embargo numerosos trabajos prueban que el genotipo 1, el más refractario al tratamiento es el que más asociación tiene con la progresión a la cirrosis y a las formas crónicas de la enfermedad. Otros trabajos postulan que los genotipos 1b y 4 son hallados frecuentemente en pacientes que presentan enfermedad recurrente.

Si bien el HCV puede ser analizado tanto por genotipificación por secuencia como por serotipificación, la metodología de elección para establecer el genotipo es en la actualidad la secuenciación y el posterior análisis filogenético.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de MUESTRA	VOLUMEN	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES
		T° AMB	4 – 8°C	-20°C	
Plasma EDTA K2 (lavanda)	3 ml	-	-	2 meses	Separar la muestra dentro de las 4 horas de efectuada la extracción y congelar a -20°C.
Suero	3 ml	-	-	2 meses	Separar la muestra dentro de las 4 horas de efectuada la extracción y congelar a -20°C.

IMPORTANTE: el laboratorio entrega a quien lo solicite, el Buffer de Lisis adecuado destinado a preservar correctamente la muestra obtenida, a fin de conservarla durante 1 semana a temperatura ambiente o a 4°C, evitando así problemas de degradación durante el transporte y envío.

La estabilidad de la muestra está condicionada al uso de dicho Buffer.

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras de sangre entera congeladas
- Muestras coaguladas sin separar.
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

CHLAMYDIA *trachomatis* DNA

Código interno: BM43

Metodología: PCR

Tipo de informe: Cualitativo

Valores de referencia: No detectable

Tiempo de entrega de resultado: 3 Días

Aplicación Clínica: Identificación del agente causal.

Es actualmente una de las bacterias encontradas con mayor prevalencia en las enfermedades sexualmente transmisibles. En mujeres, provoca desde cuadros de cervicitis, salpingitis, infertilidad por obstrucción tubaria hasta enfermedad inflamatoria pelviana o embarazos ectópicos. Sin embargo, tanto mujeres como varones pueden cursar frecuentemente la infección en forma asintomática en un porcentaje que ronda el 80 %. Los estudios moleculares arrojan resultados con sensibilidad superior a los métodos convencionales, de ahí su utilidad para diagnóstico. El monitoreo de pacientes tratados, debe ser efectuado con detecciones de mRNA en lugar de DNA, para evaluar actividad del microorganismo. Es muy importante su detección en procedimientos de fertilización asistida.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de MUESTRA	VOLUMEN MINIMO	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES TRANSPORTE
		T° AMB	4 – 8°C	-20°C	
Cepillado endocervical en Buffer provisto por el Laboratorio	-	1 semana	1 semana	-	Limpiar la zona endocervical. Tomar la muestra con endobrush o similar. Colocar el cepillo dentro del tubo con Buffer y agitarlo energicamente. Descartar el cepillo y enviar al Laboratorio
Cepillado endocervical en Buffer provisto por el Laboratorio	-	1 semana	1 semana	-	Limpiar la zona. Tomar la muestra con endobrush o similar. Colocar el cepillo dentro del tubo con Buffer y agitarlo energicamente. Descartar el cepillo y enviar al Laboratorio
Semen	1ml	-	-	1 mes	Entregar la muestra en el Laboratorio dentro de los 30-40 minutos de haberla obtenido. Llevar inmediatamente a -20°C o utilizar el Buffer de conservación según instrucciones.
Muestras conjuntivales	-	1 semana	1 semana	-	Limpiar la zona. Tomar la muestra con hisopo. Colocar el hisopo dentro del tubo con Buffer y agitarlo energicamente. Descartar el hisopo y enviar al Laboratorio
Orina	1 ml	8 Horas	24 Horas	-	Primer chorro miccional en forma aséptica

IMPORTANTE:

BUFFER PARA PRESERVACION: el laboratorio entrega a quien lo solicite, el Buffer adecuado destinado a preservar correctamente la muestra obtenida, a fin de conservarla durante 1 semana a temperatura ambiente o a 4°C, evitando así problemas de degradación durante el transporte y envío.

La estabilidad de la muestra está condicionada al uso de dicho Buffer.

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

Toxoplasma gondii DNA PCR

Código interno: BM 44

Metodología: NESTED PCR

Tipo de informe: Cualitativo

Valores de referencia: No detectable

Tiempo de entrega de resultado: 48 Horas

Aplicación Clínica: Identificación del agente causal.

La infección por *Toxoplasma gondii* presenta síntomas leves en 20% de los casos y el 80% de los pacientes inmunocompetentes, cursan la infección de manera asintomática. La prevalencia de la infección es muy variable en el mundo, puede ser del 20-40% como en diferentes zonas de la Argentina, hasta más del 80% en Francia.

El diagnóstico de la infección se realiza principalmente por estudios serológicos de anticuerpos IgG e IgM y esto resuelve la gran mayoría de las situaciones en el huésped inmunocompetente.

La toxoplasmosis aguda puede provocar durante el embarazo, daños severos y hasta muerte fetal. Debido a ello, cuando se sospecha una infección aguda en la embarazada, se sugiere efectuar Anticuerpos IgM específicos por Enzimoimmunoensayo de Captura (EIA MAC) e IgM por Immunosorbent agglutination assay (ISAGA), como así también Anticuerpos IgG por Enzimoimmunoensayo. La IgM por EIA puede ser No detectable después del primer mes de infección, y en esos casos el ISAGA tiene una similar especificidad pero una sensibilidad mucho mayor, y resulta útil como herramienta en estas situaciones. De hecho, un resultado de IgM No detectable por ISAGA, es fuerte evidencia contra una infección reciente. Al año de la infección, un 80% de los pacientes presentan IgM positivas por ISAGA mientras sólo un 40% lo son por EIA. Los resultados por dichas metodologías deberían ser combinados con la búsqueda de Anticuerpos IgG de baja avididad, cuya presencia sugiere una infección aguda reciente.

Son altamente confiables los resultados de Alta Avididad de AC. IgG para descartar infección primaria en curso. Mientras que la interpretación de baja avididad o border line ofrece más dificultades. La detección de Anticuerpos IgA e IgE específicos para Toxoplasmosis son promisorias para la clarificación del diagnóstico de la infección recientemente adquirida, como así también la del feto y del recién nacido.

En el huésped inmunocomprometido se realiza la detección de IgG para evaluar si el paciente ya estuvo infectado o no, para poder evaluar en el futuro acorde a su estado clínico y de inmunocompromiso, la posible reactivación de la infección.

Las técnicas moleculares se utilizan para definir situaciones donde las metodologías mencionadas tienen limitaciones, como por ejemplo los estudios en pacientes inmunodeprimidos o en material de biopsia o fluidos tales como líquido cefalorraquídeo, humor vítreo, o en líquido amniótico, una vez confirmada una infección aguda durante la gesta. En estos casos, la sensibilidad es del 80 % y especificidad de la metodología de Nested PCR es mayor al 97 %.

En el huésped inmunocomprometido los estudios moleculares cumplen un rol fundamental en el diagnóstico de ciertas encefalopatías con masa ocupante, donde detectar el agente causal es de fundamental importancia para el correcto tratamiento y evaluación del paciente evitando procedimientos invasivos con resultados obtenidos con gran rapidez.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de MUESTRA	VOLUMEN MINIMO	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES TRANSPORTE
		T° AMB	4 – 8°C	-20°C	
LCR	1 ml	2 Horas	24 Horas-	2 meses	Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Líquido amniótico LA	5 a 10 ml	2 Horas	24 Horas-	2 meses	Colocar en tubo estéril de primer uso. Mantener a 4-8°C en Heladera hasta su envío. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Fluido ocular / Humor vítreo,	Colocar en	1 semana	1 semana	-	No congelar.

Humor acuoso	buffer de preservación				Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio
Biopsia	Colocar en buffer de preservación	1 semana	1 semana		No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio

IMPORTANTE: el laboratorio entrega a quien lo solicite, el Buffer de Lisis adecuado destinado a preservar correctamente la muestra obtenida, a fin de conservarla durante 1 semana a temperatura ambiente o a 4°C, evitando así problemas de degradación durante el transporte y envío.
La estabilidad de la muestra está condicionada al uso de dicho Buffer.

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras de sangre entera o médula ósea congeladas
- Muestras coaguladas
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

VARICELA ZOSTER VIRUS / HERPES ZOSTER VIRUS - DNA

Código interno: BM 46

Metodología: PCR

Tipo de informe: Cualitativo

Valores de referencia: No detectable

Tiempo de entrega de resultado: 24 – 48 Horas

Aplicación Clínica: Identificación del agente causal.

El virus de Varicela Zoster pertenece a la familia *Herpesviridae* y como tal, tiene la característica de permanecer en estado de infección latente, alojándose en los ganglios raquídeos dorsales luego de la primoinfección.

En el huésped inmunocompetente, puede expresarse bajo dos formas: Varicela Zoster, que afecta mayormente a niños, y se presenta como una enfermedad altamente contagiosa y generalmente autolimitante. Mas allá de los daños que puede provocar cuando es acompañada de sobreinfecciones bacterianas, su asociación con patologías inmunológicas puede traer severas consecuencias. Una segunda forma de manifestación es el Herpes Zoster, que refleja una reactivación de la primoinfección, produce lesiones en tronco particularmente y afecta a los nervios lumbares. La reactivación se produce con mayor frecuencia en jóvenes y adultos, generalmente asociado a una disminución de las defensas.

En el huésped inmunocomprometido afecta además al sistema nervioso central. En estos pacientes la infección o reactivación puede ser multiorgánica.

La infección congénita es de muy baja incidencia, ya que la mayoría de las pacientes embarazadas están protegidas con anticuerpos previos, sin embargo la infección en el primer trimestre del embarazo, como también en el periodo perinatal, pueden producir daño fetal importante en el primer caso y lesiones similares a una varicela en el segundo. Las técnicas utilizadas para el diagnóstico dependen de cada situación. La detección de anticuerpos IgG e IgM son de utilidad en la primoinfección sintomática, como también la detección del virus en las lesiones.

La detección del virus se puede realizar a través de la búsqueda de los antígenos específicos o del ADN viral.

La detección de ADN viral por PCR es más sensible y específica que la detección de antígenos, por este motivo es la metodología de elección en el diagnóstico de infección del Sistema Nervioso Central y todo fluido o material que refleje la infección con probable baja carga viral.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de MUESTRA	VOLUMEN MINIMO	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES TRANSPORTE
		T° AMB	4 – 8°C	-20°C	
Sangre Entera EDTA K2 (lavanda)	5 ml	8 Horas	72 Horas	-	No congelar
Plasma c/ EDTA K2 (lavanda)	1 ml	2 Horas	24 Horas	1 Semana	Separar el plasma dentro de las 2 Hs de extraído. Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Médula ósea EDTA K2 (lavanda)	2 ml	8 Horas	72 Horas	-	No congelar
LCR	1 ml	2 Horas	24 Horas-	2 meses	Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Biopsia	Colocar en buffer de preservación	1 semana	1 semana	-	No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio

Hisopado de lesiones dérmicas	Colocar en buffer de preservación	1 semana	1 semana		No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio
Fluido ocular / Humor vítreo, Humor acuoso	Colocar en buffer de preservación	1 semana	1 semana	-	No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio

IMPORTANTE: el laboratorio entrega a quien lo solicite, el Buffer de Lisis adecuado destinado a preservar correctamente la muestra obtenida, a fin de conservarla durante 1 semana a temperatura ambiente o a 4°C, evitando así problemas de degradación durante el transporte y envío. La estabilidad de la muestra está condicionada al uso de dicho Buffer.

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras de sangre entera o médula ósea congeladas
- Muestras coaguladas
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

HIV DNA PROVIRAL

Código interno: BM 48

Metodología: Nested PCR

Tipo de informe: Cualitativo

Valores de referencia: No detectable

Tiempo de entrega de resultado: 72-96 Horas.

Aplicación Clínica: Diagnóstico en recién nacido de madre portadora, evaluación de primoinfección sintomática, exposición accidental en situaciones de riesgo de contagio.

Información general sobre los estudios moleculares en HIV:

El Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida es producido por el Virus de Inmunodeficiencia Humana, del que se han descrito dos tipos, HIV 1 y HIV 2. Del HIV 1, a su vez se diferencian tres grupos M, N y O y dentro del grupo M existen reconocidos 11 subtipos de la A-K.

Gran parte de la pandemia es producida por HIV 1 grupo M y los subtipos varían en las diferentes regiones del mundo; en particular en América de Sur los subtipos más habituales son el B, F y C.

A pesar que entre el 50 a 90% de los pacientes poseen síntomas en la infección primaria por HIV, el diagnóstico de la infección se consigue, en más del 99% de los pacientes, a través de los estudios serológicos de detección de anticuerpos cuando la infección ya es crónica. Estos test de rastreo o tamizaje (ELISA) poseen una Sensibilidad y Especificidad mayor al 99% y valores predictivos negativo y positivo que dependen del momento de la infección y la población estudiada.

Todos los estudios efectuados con técnicas de ELISA que arrojen resultados REACTIVOS, deben ser confirmados por técnicas de inmunoblotting, como Western Blot, para informar la presencia de anticuerpos específicos y por consiguiente la infección por HIV.

*Entre los estudios moleculares a efectuar se pueden mencionar el **DNA proviral**, la Cuantificación de RNA Plasmático (Carga Viral) y los Test de Resistencia a Antirretrovirales. .*

La definición sobre el inicio del tratamiento y su posterior seguimiento requiere de dos estudios, uno que evalúe el aspecto inmunológico, recuento de CD4 y otro que determine el aspecto virológico y que se modifique sensiblemente con el tratamiento o falla de este, la Cuantificación de RNA en plasma o Carga Viral.

Existen recomendaciones internacionales acerca de cuándo es aconsejable comenzar tratamiento según estos dos parámetros y también cuando es necesario el cambio de un esquema antirretroviral frente al fallo terapéutico. Los estudios utilizados para definir un cambio de conducta terapéutica se basan en la búsqueda por secuenciación de cepas virales resistentes, las cuales expresan mutaciones asociadas a los antirretrovirales. Los test de Resistencia pueden ser genotípicos o fenotípicos y constituyen una herramienta indispensable para el uso clínico.

La detección de **DNA PROVIRAL** tiene su fundamento en la capacidad del virus de ingresar a la célula target, y luego de perder sus proteínas de envoltura, transcribirse a DNA integrándose al genoma de la célula huésped. El DNA puede ser detectado sobre células mononucleares infectadas de sangre periférica antes de la seroconversión y debido a ello su aplicación se encuentra asociada a situaciones donde el diagnóstico serológico no es sensible o específico, como es el caso de la primoinfección sintomática donde el nivel de anticuerpos es aún bajo o pueden estar ausentes hasta 2 meses o más, después de la infección, o en el caso del recién nacido de madre HIV positiva, donde la serología es poco específica por la transferencia pasiva de anticuerpos maternos a través de placenta. En estas situaciones la detección de DNA proviral en sangre entera presenta una sensibilidad y especificidad mayor al 98% y es la metodología recomendada.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de	VOLUMEN	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES
MUESTRA	MINIMO	T° AMB	4 – 8°C	-20°C	TRANSPORTE
Sangre entera con / EDTA K2	2 ml	24 Horas	72 Horas	-	No congelar

IMPORTANTE: el laboratorio entrega a quien lo solicite, el Buffer de Lisis adecuado destinado a preservar correctamente la muestra obtenida, a fin de conservarla durante 1 semana a temperatura ambiente o a 4°C, evitando así problemas de degradación durante el transporte y envío. La estabilidad de la muestra está condicionada al uso de dicho Buffer.

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras de sangre entera o médula ósea congeladas
- Muestras coaguladas
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

–VIH CARGA VIRAL / DETECCION CUANTITATIVA DE RNA VIH / Detección Cualitativa de RNA VIH

CUANTIFICACION DE HIV 1 – CARGA VIRAL DE HIV1

Código interno: BM 58

Metodología: NASBA Real Time

Tipo de informe: Cuantitativo

Valores de referencia: Menores de 50 UI/ml - $\text{Log}_{10} < 1.70$

Para esta metodología, una UI de RNA de HIV es el equivalente de 1 copia RNA/ml

Rango analítico del método: 50 a 5.000.000 UI/ml - $\text{Log}_{10} 1.70$ a 6.70

Sensibilidad: 25 UI/ml

Tiempo de entrega de resultado: 72-96 Horas.

Aplicación Clínica: Monitoreo de tratamiento y seguimiento de la infección por HIV.

Información general:

El Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida es producido por el Virus de Inmunodeficiencia Humana, del que se han descrito dos tipos, HIV 1 y HIV 2. Del HIV 1, a su vez se diferencian tres grupos M, N y O y dentro del grupo M existen reconocidos 11 subtipos de la A-K.

Gran parte de la pandemia es producida por HIV 1 grupo M y los subtipos varían en las diferentes regiones del mundo; en particular en América de Sur los subtipos más habituales son el B, F y C.

A pesar que entre el 50 a 90% de los pacientes poseen síntomas en la infección primaria por HIV, el diagnóstico de la infección se consigue, en más del 99% de los pacientes, a través de los estudios serológicos de detección de anticuerpos cuando la infección ya es crónica. Estos test de rastreo o tamizaje (ELISA) poseen una Sensibilidad y Especificidad mayor al 99% y valores predictivos negativo y positivo que dependen del momento de la infección y la población estudiada.

Todos los estudios efectuados con técnicas de ELISA que arrojen resultados REACTIVOS, deben ser confirmados por técnicas de inmunoblotting, como Western Blot, para informar la presencia de anticuerpos específicos y por consiguiente la infección por HIV.

Entre los estudios moleculares a efectuar se pueden mencionar el DNA proviral, la Cuantificación de RNA Plasmático (Carga Viral) y los Test de Resistencia a Antirretrovirales.

El DNA Proviral se encuentra asociado a situaciones donde el diagnóstico serológico no es sensible o específico, como es el caso de la primoinfección sintomática donde el nivel de anticuerpos es aún bajo o pueden estar ausentes hasta 2 meses o más, después de la infección, o en el caso del recién nacido de madre HIV positiva, donde la serología es poco específica por la transferencia pasiva de anticuerpos maternos a través de placenta. En estas situaciones la detección de DNA proviral en sangre entera presenta una sensibilidad y especificidad mayor al 98% y es la metodología recomendada.

La definición sobre el inicio del tratamiento y su posterior seguimiento requiere de dos estudios, uno que evalúe el aspecto inmunológico, recuento de CD4 y otro que determine el aspecto virológico y que se modifique sensiblemente con el tratamiento o falla de este, la Cuantificación de RNA en plasma o Carga Viral.

Existen recomendaciones internacionales acerca de cuándo es aconsejable comenzar tratamiento según estos dos parámetros y también cuando es necesario el cambio de un esquema antirretroviral frente al fallo terapéutico. Los estudios utilizados para definir un cambio de conducta terapéutica se basan en la búsqueda por secuenciación de cepas virales resistentes, las cuales expresan mutaciones asociadas a los antirretrovirales. Los test de Resistencia pueden ser genotípicos o fenotípicos y constituyen una herramienta indispensable para el uso clínico.

La medición de **RNA plasmático cuantitativo (Carga Viral)** se puede realizar por diferentes metodologías. Cada una presenta sus ventajas y desventajas, pero los trabajos retrospectivos y prospectivos indican que todas ellas son

similares para el objetivo final que es definir la cantidad de virus en sangre, y como éste se modifica a través del tiempo con o sin tratamiento. Los resultados deben ser expresados en UI/ml y \log_{10} , aunque aún se utiliza Copias de RNA/ml como unidad, junto al \log_{10} .

Existen principalmente tres metodologías: NASBA, RT-PCR y Branched DNA, todas ellas poseen diferentes características dadas por el método de aislamiento de ácidos nucleicos, fundamentos de la técnica, límite de detección, rango lineal, estructura, equipamiento necesario, complejidad, automatización, etc., y debido a esto, es importante tener en cuenta que, si bien existen numerosos estudios comparativos entre las mismas, efectuados para tratar de unificar el criterio de interpretación de los resultados, no son intercambiables entre ellas para el seguimiento de un mismo paciente y se recomienda que, al cambiar de metodología se realice en paralelo una o dos veces.

Es fundamental conocer que las técnicas moleculares de detección de RNA cuantitativo en plasma (Carga Viral) no se deben utilizar para diagnóstico ya que están exclusivamente validadas para utilizar en pacientes donde la infección está confirmada por serología (ELISA y WESTERN BLOT). A pesar de esto existen suficientes datos en la bibliografía que indican que la medición cuali-cuantitativa de RNA plasmático puede ser utilizada en las mismas situaciones en las que se utiliza la detección de DNA proviral, teniendo siempre el concepto que el diagnóstico final es serológico y que estos estudios sólo permiten predecir la posibilidad o no de infección en dichas situaciones.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de MUESTRA	VOLUMEN MINIMO	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES TRANSPORTE
		T° AMB	4 – 8°C	-20°C	
Plasma c/ EDTA K2	3 ml	2 Horas	72 Horas		Separar el plasma dentro de las 2 Hs de extraído. Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar a -20°C.
Plasma c/ EDTA K2 (lavanda)	3 ml	2 Horas	24 Horas	1 Semana	Separar el plasma dentro de las 2 Hs de extraído. Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Sangre entera en tubos BD Vacutainer PPT	5 ml	5 Días	5 días	-	Ver instructivo para utilización de tubos BD PPT

INSTRUCCIONES PARA LA UTILIZACION DE TUBOS BD VACUTAINER PPT

- Los tubos PPT poseen una barrera de gel para la separación de plasma durante la centrifugación, que evita la manipulación de la muestra y facilita su envío a laboratorios de procesamiento.
- Los tubos deben conservarse hasta su uso a temperatura ambiente (18 a 25°C)
- Colocar 5 ml de la sangre extraída dentro de los tubos PPT.
- Invertir el tubo de 8 a 10 veces para homogeneizar la muestra.
- Dejar reposar el tubo con la muestra homogeneizada, en forma vertical sobre la mesada hasta la centrifugación.
- Las muestras deben ser centrifugadas dentro de las 2 horas de efectuada la extracción.
- Centrifugar los tubos PPT a temperatura ambiente, de 10 a 15 minutos a 1100 RCF.
- No congelar, mantener entre 4 y 10° C. Enviar sin remover el plasma en un lapso no mayor de 5 días.

IMPORTANTE: el Laboratorio entrega a quien lo solicite, los tubos Vacutainer PPT para una correcta conservación de la muestra en el caso de no ser posible la centrifugación y separación del plasma dentro de las 2 horas recomendadas, evitando así la degradación durante el transporte.

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras de sangre entera o médula ósea congeladas
- Muestras coaguladas
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

HIV DETECCION CUALITATIVA DE RNA

Código interno: BM62

Metodología: RT- PCR

Tipo de informe: Cualitativo

Valores de referencia: No detectable

Tiempo de entrega de resultado: 72-96 Horas.

Aplicación Clínica: Diagnostico en recién nacido de madre portadora. Evaluación de primoinfección sintomática.

El Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida es producido por el Virus de Inmunodeficiencia Humana, del que se han descrito dos tipos, HIV 1 y HIV 2. Del HIV 1, a su vez se diferencian tres grupos M, N y O y dentro del grupo M existen reconocidos 11 subtipos de la A-K.

Gran parte de la pandemia es producida por HIV 1 grupo M y los subtipos varían en las diferentes regiones del mundo; en particular en América de Sur los subtipos más habituales son el B, F y C.

A pesar que entre el 50 a 90% de los pacientes poseen síntomas en la infección primaria por HIV, el diagnóstico de la infección se consigue, en más del 99% de los pacientes, a través de los estudios serológicos de detección de anticuerpos cuando la infección ya es crónica. Estos test de rastreo o tamizaje (ELISA) poseen una Sensibilidad y Especificidad mayor al 99% y valores predictivos negativo y positivo que dependen del momento de la infección y la población estudiada.

Todos los estudios efectuados con técnicas de ELISA que arrojen resultados REACTIVOS, deben ser confirmados por técnicas de inmunoblotting, como Western Blot, para informar la presencia de anticuerpos específicos y por consiguiente la infección por HIV.

Entre los estudios moleculares a efectuar se pueden mencionar el DNA proviral, el RNA Plasmático, tanto la cuantificación (Carga Viral) como la detección del mismo (RNA Cualitativo) y los Test de Resistencia a Antirretrovirales.

El DNA Proviral se encuentra asociado a situaciones donde el diagnóstico serológico no es sensible o específico, como es el caso de la primoinfección sintomática donde el nivel de anticuerpos es aún bajo o pueden estar ausentes hasta 2 meses o más, después de la infección, o en el caso del recién nacido de madre HIV positiva, donde la serología es poco específica por la transferencia pasiva de anticuerpos maternos a través de placenta. En estas situaciones la detección de DNA proviral en sangre entera presenta una sensibilidad y especificidad mayor al 98% y es la metodología recomendada.

La definición sobre el inicio del tratamiento y su posterior seguimiento requiere de dos estudios, uno que evalúe el aspecto inmunológico, recuento de CD4 y otro que determine el aspecto virológico y que se modifique sensiblemente con el tratamiento o falla de este, la Cuantificación de RNA en plasma o Carga Viral.

Existen recomendaciones internacionales acerca de cuándo es aconsejable comenzar tratamiento según estos dos parámetros y también cuando es necesario el cambio de un esquema antirretroviral frente al fallo terapéutico. Los estudios utilizados para definir un cambio de conducta terapéutica se basan en la búsqueda por secuenciación de cepas virales resistentes, las cuales expresan mutaciones asociadas a los antirretrovirales. Los test de Resistencia pueden ser genotípicos o fenotípicos y constituyen una herramienta indispensable para el uso clínico.

La **detección de RNA cualitativo** en plasma presenta resultados equivalentes a los obtenidos con la determinación de DNA proviral, pero con algunas ventajas metodológicas como por ejemplo, el tratamiento de la muestra, ya que no se trabaja sobre células infectadas, sino sobre plasma. A pesar de esto, la bibliografía sigue recomendando para las mencionadas situaciones, la realización de DNA proviral por Nested PCR.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de MUESTRA	VOLUMEN MINIMO	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES
		T° AMB	4 – 8°C	-20°C	
Plasma c/ EDTA K2 (lavanda)	1ml	2 Horas	24 Horas	10 Semanas	Separar el plasma dentro de las 2 Hs de extraído. Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar a -20°C.
Sangre entera en tubos BD Vacutainer PPT	5 ml	5 Días	5 Días		Ver instructivo para utilización de tubos BD PPT

INSTRUCCIONES PARA LA UTILIZACION DE TUBOS BD VACUTAINER PPT

- Los tubos PPT poseen una barrera de gel para la separación de plasma durante la centrifugación, que evita la manipulación de la muestra y facilita su envío a laboratorios de procesamiento.
- Los tubos deben conservarse hasta su uso a temperatura ambiente (18 a 25°C)
- Colocar 5 ml de la sangre extraída dentro de los tubos PPT.
- Invertir el tubo de 8 a 10 veces para homogeneizar la muestra.
- Dejar reposar el tubo con la muestra homogeneizada, en forma vertical sobre la mesada hasta la centrifugación.
- Las muestras deben ser centrifugadas dentro de las 2 horas de efectuada la extracción.
- Centrifugar los tubos PPT a temperatura ambiente, de 10 a 15 minutos a 1100 RCF.
- No congelar, mantener entre 4 y 10° C. Enviar sin remover el plasma en un lapso no mayor de 5 días.

IMPORTANTE: el Laboratorio entrega a quien lo solicite, los tubos BD Vacutainer PPT para una correcta conservación de la muestra en el caso de no ser posible la centrifugación y separación del plasma dentro de las 2 horas recomendadas, evitando así la degradación durante el transporte.

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras de sangre entera o médula ósea congeladas
- Muestras coaguladas
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

MYCOBACTERIUM *Avium complex* (MAC - MICOBACTERIAS ATÍPICAS) DNA

Código interno: BM 73

Metodología: NESTED PCR

Tipo de informe: Cualitativo

Valores de referencia: No detectable

Tiempo de entrega de resultado: 48 – 72 horas

Aplicación Clínica: Identificación del agente causal.

En pacientes inmunocomprometidos, en particular con HIV, el Mycobacterium Avium complex (MAC), puede producir no sólo infecciones respiratorias, sino también infección diseminada.

La infección por MAC se presenta particularmente en aquellos pacientes con CD4<200/ul.

El diagnóstico de la infección por Mycobacterium tuberculosis complex en tracto respiratorio inferior, se realiza a través de las metodologías tradicionales, estas metodologías permiten también la detección de MAC, pero no diferenciarla de TBC.

Cultivo en medio sólido: Es el "Gold Standard", pero presenta el inconveniente del tiempo para el desarrollo, que oscila entre 30 a 40 días para TBC, mientras que MAC desarrolla entre 7 a 14 días dependiendo del inóculo bacteriano.

Cultivo en medio líquido: Es de elección ya que presenta una sensibilidad similar al medio sólido y reduce el tiempo de detección a 10 a 14 días y menos de una semana para MAC. Ambos cultivos detectan aproximadamente de 10-100 ufc/ul.

Las técnicas moleculares **no son de elección para muestras del tracto respiratorio inferior**, pero si aportan en algunas situaciones en particular. En aquellas muestras ZN negativas, la PCR puede detectar el 50% de estas antes de esperar el cultivo, si bien por esta baja sensibilidad, las técnicas moleculares sólo están aprobadas para ser utilizadas en muestras respiratorias y con ZN positivo, en estos casos sólo tendría la utilidad de diferenciar entre Mycobacterium complex (típicas) o Mycobacterium avium-complex (atípicas).

Para la correcta utilización de dichas técnicas en los distintos materiales biológicos a estudiar, es fundamental considerar: Volumen de muestra a estudiar, Tipo de muestra (LCR, sangre entera, plasma, suero, otros fluidos), la evaluación de controles internos y externos dentro del laboratorio y realizar una interpretación de los resultados dentro del contexto clínico y epidemiológico de cada paciente.

En conclusión las técnicas moleculares pueden hacer un aporte al diagnóstico de Mycobacterium tuberculosis complex y MAC sólo en situaciones especiales y teniendo en cuenta los recaudos necesarios para una correcta interpretación.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de MUESTRA	VOLUMEN MINIMO	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES TRANSPORTE
		T° AMB	4 – 8°C	-20°C	
Secreciones respiratorias	Colocar en buffer de preservación	1 semana	1 semana	-	No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio
LCR	1 ml	2 Horas	24 Horas-	2 meses	Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Sangre Entera EDTA K2 (lavanda)	5 ml	8 Horas	72 Horas	-	No congelar



bionet
BIOQUIMICA CLINICA
Y MOLECULAR

Bionet biología molecular aplicada
ARCHIVOS DE APLICACIÓN CLINICA
Y DETALLES TECNICOS

Biopsia	Colocar en buffer de preservación	1 semana	1 semana	-	No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio
Otros Fluidos	Colocar en buffer de preservación	1 semana	1 semana	-	No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio
Médula ósea EDTA K2 (lavanda)	2 ml	8 Horas	72 Horas	-	No congelar

IMPORTANTE: el laboratorio entrega a quien lo solicite, el Buffer de Lisis adecuado destinado a preservar correctamente la muestra obtenida, a fin de conservarla durante 1 semana a temperatura ambiente o a 4°C, evitando así problemas de degradación durante el transporte y envío.
La estabilidad de la muestra está condicionada al uso de dicho Buffer.

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras de sangre entera o médula ósea congeladas
- Muestras coaguladas
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

PARVOVIRUS B19 DNA

Código interno: BM 82
Metodología: NESTED PCR
Tipo de informe: Cualitativo
Valores de referencia: No detectable
Tiempo de entrega de resultado: 24 – 48 Horas

Aplicación Clínica: Identificación del agente causal.

El PARVOVIRUS B19 pertenece a la familia de los *Erythrovirus* y debe el nombre a su tropismo por los precursores eritroides. Es la causa de la 5^{ta} enfermedad o 5^{to} exantema que se produce en niños y se caracteriza por una erupción en forma de roséala. En los adultos puede producir una variedad de síntomas relacionados, dependiendo del estado inmunológico y hematológico del huésped como artropatías, desordenes neurológicos, miocarditis y posible hepatitis. La infección durante el embarazo puede causar efectos adversos en el feto desde anemia fetal, hasta "Hidrops fetalis" y muerte fetal. La incidencia de infección durante el embarazo se estima entre el 1 a 5% y la transmisión vertical en un 30%. En el huésped inmunocomprometido puede causar anemia crónica con aplasia medular de la serie roja. Las patologías asociadas en el feto y en el huésped inmunocomprometido se producen por persistencia del virus en ausencia de anticuerpos neutralizantes que controlen la infección.

La prevalencia de la infección en adultos alcanza el 60%, sin mayores complicaciones en la mayoría de los casos.

El diagnóstico en el huésped inmunocompetente es principalmente a través de la detección de anticuerpos IgG e IgM, para lo que se cuenta con metodologías que poseen excelente sensibilidad y especificidad para dichas situaciones y con la detección de IgA específica como marcador de enfermedad aguda, ya que la presencia de estos anticuerpos, circunscribe el momento de la infección a los últimos dos meses.

En el huésped inmunocomprometido la detección se realiza a través de técnicas moleculares, que arrojan resultados relevantes antes de la seroconversión.

La detección del DNA se puede realizar de diferentes materiales clínicos dependiendo del caso, tales como suero, orina, líquido pleural, líquido sinovial, líquido amniótico, médula ósea o líquido céfalo raquídeo. La sensibilidad de las técnicas moleculares es alta, si bien no existen datos definitivos en la bibliografía, por ser patologías relativamente poco habituales, aunque con una alta morbi-mortalidad.

Los estudios de detección de DNA realizados en diferentes materiales demuestran que éste puede estar presente por mucho tiempo después de la infección tanto en pacientes con enfermedades asociadas como en controles sanos, en consecuencia los resultados positivos por técnicas moleculares deben ser interpretados dentro del contexto clínico, inmunológico y hematológico de cada paciente en particular.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de MUESTRA	VOLUMEN MINIMO	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES TRANSPORTE
		T° AMB	4 – 8°C	-20°C	
Sangre entera en tubos BD Vacutainer PPT	5 ml	5 Días	5 días	-	Ver instructivo para utilización de tubos BD PPT
Sangre Entera EDTA K2 (lavanda)	5 ml	24 Horas	72 Horas	-	No congelar
Plasma c/ EDTA K2 (lavanda)	3 ml	2 Horas	72 Horas	6 meses	Separar el plasma dentro de las 2 Hs de extraído. Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar a -20°C.
Médula ósea EDTA K2 (lavanda)	2 ml	24 Horas	72 Horas	-	No congelar
LCR	1 ml	4 Horas	24 Horas-	6 meses	Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Biopsia	Colocar en buffer de	1 semana	1 semana	-	No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por

	preservación				el laboratorio
Líquido sinovial, Líquido pericárdico	1 ml	4 Horas	24 Horas	6 meses	Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Líquido amniótico LA	5 a 10 ml	4 Horas	-1 semana	6 meses	Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Orina	5 a 10 ml	4 Horas	-1 semana	6 meses	Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad

INSTRUCCIONES PARA LA UTILIZACION DE TUBOS BD VACUTAINER PPT

- Los tubos PPT poseen una barrera de gel para la separación de plasma durante la centrifugación, que evita la manipulación de la muestra y facilita su envío a laboratorios de procesamiento.
- Los tubos deben conservarse hasta su uso a temperatura ambiente (18 a 25°C)
- Colocar 5 ml de la sangre extraída dentro de los tubos PPT.
- Invertir el tubo de 8 a 10 veces para homogeneizar la muestra.
- Dejar reposar el tubo con la muestra homogeneizada, en forma vertical sobre la mesada hasta la centrifugación.
- Las muestras deben ser centrifugadas dentro de las 2 horas de efectuada la extracción.
- Centrifugar los tubos PPT a temperatura ambiente, de 10 a 15 minutos a 1100 RCF.
- No congelar, mantener entre 4 y 10° C. Enviar sin remover el plasma en un lapso no mayor de 5 días.

IMPORTANTE: Para evitar la degradación de las muestras, el Laboratorio entrega a quien lo solicite:

1. Tubos Vacutainer PPT para una correcta conservación de la muestra en el caso de no ser posible la centrifugación y separación del plasma dentro de las 2 horas recomendadas.
2. Buffer de Lisis adecuado destinado a preservar correctamente la muestra obtenida, a fin de conservarla durante 1 semana a temperatura ambiente o a 4°C.

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras de sangre entera o médula ósea congeladas
- Muestras coaguladas
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

HLA B* 5701

Código interno: BM 106

Metodología: AS - PCR

Tipo de informe: Cualitativo, expresando presencia o ausencia de la variable B*5701

Valores de referencia: Variable hallada

Tiempo de entrega de resultado: 15 días

Aplicación Clínica: La reacción de hipersensibilidad a Abacavir (ABC HSR) es un síndrome clínico multiorgánico que se presenta dentro de las seis semanas desde el inicio de la terapia con este antirretroviral. La reacción ha sido reportada en un 5 al 8 % de pacientes que participan de estudios de investigación clínica y en muchos casos ha sido la causa del abandono del tratamiento.

Discontinuar la toma del Abacavir, revierte los efectos de la hipersensibilidad, sin embargo, tomas subsiguientes pueden causar rápidos y severos cuadros de recurrencia que pueden hasta comprometer la vida del paciente,

Estudios demográficos de factores de riesgo han demostrado que la hipersensibilidad a ese medicamento está ligada a la etnia, presentando la raza blanca un alto riesgo (5-8 %) mientras que la raza negra presenta un riesgo menor (2-4 %).

Se ha reportado una significativa asociación entre la hipersensibilidad al Abacavir y la presencia de alelos de HLA B 5701 del Complejo Mayor de Histocompatibilidad de clase I.

Las Guías DHHS 2008 para tratamiento antirretroviral de Adultos y Adolescentes, recomiendan como screening, un test de parche en piel desarrollado para investigar la hipersensibilidad al Abacavir pero se ha demostrado que mediante esta prueba pueden aparecer falsos positivos. Por lo tanto es necesario confirmar mediante metodologías moleculares para obtener datos más precisos

La presencia del alelo B* 5701 por AS PCR sugiere que la prescripción del Abacavir no está recomendada en esos pacientes.

Antes de la prescripción o del reinicio del tratamiento con este medicamento es necesario realizar la búsqueda de alelos de HLA B 5701. Cuando no es posible realizar esta prueba de PCR se sugiere consejo clínico apropiado y el monitoreo para visualizar signos de la reacción de hipersensibilidad.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de	VOLUMEN	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES
MUESTRA	MINIMO	T° AMB	4 – 8°C	-20°C	TRANSPORTE
Sangre Entera EDTA K2 (lavanda)	5 ml	8 Horas	72 Horas	-	No congelar

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras de sangre entera o médula ósea congeladas
- Muestras coaguladas
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

BM 115 - BKV DNA

Código interno: BM115

Metodología: NESTED PCR

Tipo de informe: Cualitativo

Valores de referencia: No detectable

Tiempo de entrega de resultado: 24 – 48 Horas

Aplicación Clínica: Identificación del agente causal.

La infección por **Polyomavirus** humano esta ampliamente distribuida en todo el mundo. Dos son los representantes (**BKV** y **JCV**) que tienen mayor importancia en especial en huéspedes inmunodeficientes o inmunocomprometidos, ya que la infección en el huésped inmunocompetente no presenta ninguna relevancia.

La infección por BKV se produce en los primeros años de la vida en forma habitualmente asintomática permaneciendo el virus en forma latente en riñón y linfocitos B.

El **BKV** esta relacionado con la producción de **nefropatías** en diferentes trasplantes, en particular en trasplante renal, pero también en Páncreas, Hígado, Corazón.

La búsqueda de anticuerpos en estos virus no tiene utilidad debido en parte a su alta prevalencia en la población general y por otro lado a que afecta a huéspedes inmunocomprometidos, con resultados de serologías confusos e indeterminados.

El seguimiento de transplantados renales requiere de un protocolo de seguimiento para evaluar la posibilidad de nefropatía producida por BKV. Si bien la prevalencia de dicha patología no supera el 8%, el aumento de inmunosupresión, con la incorporación de estudios moleculares demuestra un aumento paulatino de la prevalencia con las consecuencias de mayor riesgo de rechazo del injerto.

No existen pautas totalmente definidas en este sentido, pero algunos grupos de trabajo ya han propuesto algunos algoritmos de seguimiento. El objetivo de estos algoritmos es poder determinar cuándo el virus está realmente replicando ya que en muchas oportunidades, su presencia no es más que la lógica de una infección latente, por ello la importancia de la cuantificación de DNA o la detección de RNA mensajero como marcador de actividad.

Básicamente, las sugerencias de seguimiento plantean en los primeros 2 años postrasplante, controles cada 3 meses con células Decoy, y PCR Cualitativa/cuantitativa en plasma y en orina. Si existen células Decoy en más de 3 controles o cargas virales en plasma $>10^4$ copias/ml o cargas virales en orina $>10^7$ copias/ml, revelan enfermedad por BKV y estaría indicado el tratamiento adecuado, además de realizar la biopsia para confirmar la posible nefropatía.

Las metodologías para la detección y cuantificación de BKV DNA se encuentran en constante evaluación y comprenden desde técnicas de Nested PCR cualitativas hasta Real Time PCR para su cuantificación.

También existen trabajos que indican que la medición de RNA mensajero sería un marcador mas específico de replicación viral, aunque a pesar de ello, se requiere cuantificación para adoptar una conducta terapéutica.

No se ha demostrado, como en el caso del JCV, la relación entre BKV y enfermedades de SNC, y si bien ha sido detectado por PCR en LCR no se ha podido asociar con patologías definidas. También se ha encontrado en grupos controles, con lo que esto aparentemente refleja la posibilidad de encontrar este virus en pacientes sanos.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de MUESTRA	VOLUMEN MINIMO	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES TRANSPORTE
		T° AMB	4 – 8°C	-20°C	
Sangre Entera EDTA K2 (lavanda)	5 ml	8 Horas	72 Horas	-	No congelar
Plasma c/ EDTA K2 (lavanda)	1 ml	2 Horas	24 Horas	1 Semana	Separar el plasma dentro de las 2 Hs de extraído. Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad
Orina	10-30ml	2 Horas	24-48 Horas	1 semana	No congelar
Biopsia	Colocar en buffer de preservación	1 semana	1 semana	-	No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio

IMPORTANTE: el laboratorio entrega a quien lo solicite, el Buffer de Lisis adecuado destinado a preservar correctamente la muestra obtenida, a fin de conservarla durante 1 semana a temperatura ambiente o a 4°C, evitando así problemas de degradación durante el transporte y envío.

La estabilidad de la muestra está condicionada al uso de dicho Buffer.

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras de sangre entera o médula ósea congeladas
- Muestras coaguladas
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

BORDETELLA *pertussis* - DETECCIÓN DE DNA CUALITATIVA

Código interno: BM 118

Metodología: PCR – Primers PT1 – PT2

Tipo de informe: Cualitativo

Valores de referencia: No detectable

Tiempo de entrega de resultado: 48 - 72 Horas

Aplicación Clínica: Identificación del agente causal.

Bordetella pertussis es el agente etiológico de la llamada Tos Convulsa o Coqueluche, enfermedad endémica que se presenta en ciclos epidémicos cada tres o cuatro años. El hombre es el único reservorio. Provoca una infección respiratoria aguda, altamente contagiosa y grave, de declaración obligatoria, dependiendo el cuadro clínico de la edad del paciente y fundamentalmente de su estado inmunológico y nutricional. Afecta mayoritariamente a menores de un año de edad y es una de las diez principales causas de muerte en primera infancia. Ni la inmunización ni la infección previa confieren inmunidad de por vida, constituyendo todos esos datos, aportes importantes para el diagnóstico.

El gold standard para el diagnóstico es el cultivo de material nasofaríngeo, con una alta especificidad, pero es de muy lento desarrollo y los resultados dependen del tratamiento recibido.

Los métodos serológicos específicos IgG e IgM por Enzimoimmunoensayo son valiosos ya que aparecen y se incrementan luego de la infección, pero también lo hacen luego de la vacunación. Por eso el indicador serológico más determinante es la detección de IgA específica, ya que solo aparece con motivo de la infección.

No obstante todos estos recursos, el uso de la PCR se ha convertido en el método más rápido, sensible y específico para confirmar el diagnóstico tanto en niños como en sus contactos, lo que permite adoptar la quimioprofilaxis adecuada evitando posibles brotes. La detección puede ser realizada mediante técnicas moleculares en la fase intermedia y tardía de la enfermedad, y la presencia de antibióticos interfiere con los resultados a partir del quinto día de tratamiento. Si es importante tener en cuenta que la sensibilidad de la PCR decrece en adolescentes y adultos.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de MUESTRA	VOLUMEN MINIMO	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES TRANSPORTE
		T° AMB	4 – 8°C	-20°C	
Secreciones respiratorias: Aspirado nasofaríngeo, Hisopados.	Colocar en buffer de lisis Utilizar siempre hisopos de rayon o Dracon	1 semana	1 semana	-	No congelar. Seguir las instrucciones del Buffer provisto por el laboratorio
Secreciones respiratorias: Aspirado nasofaríngeo, Hisopados.	Utilizar siempre hisopos de rayon o Dracon	4 horas	2 días	2 semanas	Enviar al laboratorio lo antes posible

IMPORTANTE:

El laboratorio entrega a quien lo solicite, el Buffer de Lisis adecuado destinado a preservar correctamente la muestra obtenida, a fin de conservarla durante 1 semana a temperatura ambiente o a 4°C, evitando así problemas de degradación durante el transporte y envío. En caso de no contar con el mismo, consulte instrucciones al laboratorio

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad

MARCADORES MOLECULARES DE MEMBRANA CUANTIFICACIÓN DE POBLACIONES LINFOCITARIAS EN SANGRE PERIFERICA

Código interno: CD2 - CD3 - CD4 - CD8 - RELACIÓN CD4/CD8 - CD19 - CD16-56 - HLA DR

Metodología: CITOMETRIA DE FLUJO

Tipo de informe: Cuantitativo en valores relativos y números absolutos

Valores de referencia: Ver tabla de Intervalos de Referencia

Tiempo de entrega de resultado: 48 Horas

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

TIPO de MUESTRA	VOLUMEN MINIMO	ESTABILIDAD			OBSERVACIONES TRANSPORTE
		T° AMB	4 – 8°C	-20°C	
Sangre Entera EDTA K2 (lavanda)	2 ml	48 Horas	---	---	No congelar – No refrigerar

IMPORTANTE:

1. Las muestras deben ser analizadas dentro de las 48 hs desde el momento de la extracción.
2. Si el paciente está recibiendo alguna medicación, ésta puede influir en el resultado obtenido, especialmente si se trata de inmunomoduladores o corticoides. Debido a esto, es necesario que la descripción de la misma acompañe el pedido del estudio.
3. Si el hemograma fue realizado en el lugar de origen, se solicita el envío junto a la muestra del recuento total de leucocitos y el porcentaje de linfocitos. De no recibir esta información, el resultado emitido será sólo el de número relativo, no pudiéndose informar en valores absolutos.

INTERVALOS DE REFERENCIA

CD	0 A 11 MESES	12 A 24 MESES	> DE 24 MESES
CD2 Relativo	55 – 88 %	55 – 88 %	68 – 91 %
CD2 Absoluto	3800 – 5300 células/ μ L	3100 – 4200 células/ μ L	770 – 2600 células/ μ L
CD3 Relativo	58 – 85 %	53 – 81 %	58 – 87 %
CD3 Absoluto	2170 – 6500 células/ μ L	1460 – 5440 células/ μ L	710 – 2300 células/ μ L
CD4 Relativo	38 – 62 %	31 – 54 %	32 – 62 %
CD4 Absoluto	1580 – 4850 células/ μ L	1020 – 3600 células/ μ L	370 – 1540 células/ μ L
CD8 Relativo	16 – 34 %	16 – 38 %	12 – 45 %
CD8 Absoluto	680 – 2470 células/ μ L	570 – 2230 células/ μ L	183 – 1160 células/ μ L
Relación 4/8	1.17 - 6.62	1.17 - 6.62	0.80 - 5.00
CD19 Relativo	11 – 45 %	11 – 45 %	6 – 23 %
CD19 Absoluto	430 – 3300 células/ μ L	430 – 3300 células/ μ L	117 – 620 células/ μ L
CD16 ó 56 Relativo	3 – 19 %	3 – 19 %	4 – 27 %
CD16 ó 56 Absoluto	80 – 340 células/ μ L	80 – 340 células/ μ L	72 – 620 células/ μ L
HLA DR Relativo	11 – 45 %	11 – 45 %	6 – 23 %
HLA DR Absoluto	430 – 3300 células/ μ L	430 – 3300 células/ μ L	117 – 620 células/ μ L

INTERPRETACION

Las células CD4 son Linfocitos con función HELPER, ya que coexpresan tanto el marcador CD4 como el CD3, así como los CD8 poseen función SUPRESORA porque coexpresan el marcador CD8 junto al CD3. Los Linfocitos T, expresan CD3 y CD2, mientras que los Linfocitos B expresan CD19 y HLA DR, siendo éste último, también un marcador de activación. Las células NK Natural Killer, expresan CD16 y/o CD56, con ausencia de expresión de CD3.

Los valores mencionados en la tabla, son exclusivamente obtenidos en sangre periférica.

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras coaguladas
- Muestras congeladas
- Muestras hemolizadas
- Muestras conservadas más de 48 hs