

## TEMAS 12 Y 13. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO INDIRECTO.

### INTRODUCCIÓN.

La respuesta inmunológica frente a los microorganismos puede ser inespecífica o específica. Esta última es capaz de producir memoria inmunológica que permite al organismo reaccionar rápido y eficazmente frente a futuras infecciones. Sin embargo, requiere un reconocimiento previo del agente. A nivel de laboratorio, la respuesta inmunológica específica se puede medir, proporcionando el diagnóstico microbiológico indirecto.

### BASES DEL DIAGNÓSTICO INDIRECTO.

El diagnóstico indirecto está basado en las características de la respuesta inmunológica específica que son:

**Especificidad.** Es la propiedad de responder únicamente frente a un determinado antígeno. Por lo tanto, encontrar anticuerpos frente a un microorganismo concreto hace suponer que el organismo ha estado en contacto con él.

**Memoria inmunológica.** Permite que el sistema inmunológico responda rápido y eficazmente frente a antígenos a los que ha estado expuesto previamente. En esta propiedad se basan las vacunas.

### RESPUESTA INMUNE Y DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO.

Cuando el organismo entra en contacto con un antígeno se suceden los siguientes fenómenos:

- Aparición precoz de IgM específica que persiste poco en el tiempo. Su detección indica que la infección está en fase aguda. (No siempre es detectable).
- Aparición más tardía de IgG específica que persiste a altas concentraciones durante periodos prolongados y en ocasiones de por vida. Encontrar valores de IgG que aumentan en dos muestras separadas 2 semanas indica la presencia de un estímulo antigénico y por lo tanto de infección. Este fenómeno se denomina *seroconversión* y es la base del diagnóstico indirecto de certeza.

### UTILIDAD DE LOS ESTUDIOS SEROLÓGICOS.

Los test serológicos permiten hacer diagnósticos indirectos (tabla 1) y estudios epidemiológicos que permiten conocer el estado inmunitario de la población.

**Tabla 1. Indicaciones del diagnóstico indirecto.**

- |   |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"><li>-Cuando los cultivos son negativos debido al tratamiento o porque el agente no es cultivable.</li><li>-Si la muestra se toma tarde el patógeno ya no puede eliminarse.</li><li>-En fases subagudas determinados microorganismos son difíciles de recuperar.</li><li>-Dificultad de interpretación de un aislamiento en portadores sanos.</li><li>- Casos atípicos o asintomáticos.</li><li>-En los casos de aislamientos mixtos</li></ul> |
|---|

## ELECCIÓN DE UNA PRUEBA SEROLÓGICA.

A la hora de elegir una prueba serológica hay que evaluar su sensibilidad, especificidad y sus valores predictivos positivos y negativos.

**Sensibilidad (S).** Es la capacidad de una prueba para dar positivo en los pacientes con enfermedad. Indica si se clasifica bien a los enfermos.

**Especificidad (E).** Es la capacidad de una prueba para dar negativo en los sujetos sanos. Indica si se clasifica bien a los sanos.

**Valor predictivo positivo (VPP).** Es la proporción de individuos enfermos dentro de los que han sido identificados como positivos.

**Valor predictivo negativo (VPN).** Es la proporción de individuos sanos dentro de los que han sido identificados como negativos.

Tanto la sensibilidad como la especificidad son propiedades intrínsecas de un test y no dependen de la población estudiada. Sin embargo, los valores predictivos están influenciados por la prevalencia de la enfermedad, de manera que al aumentar ésta aumenta también el VPP y disminuye el VPN. Es decir, ante un resultado positivo para una enfermedad muy prevalente lo lógico es pensar que se trata de un verdadero positivo. En cambio ante resultado positivo para una enfermedad poco prevalente (Ej: serología de ébola positiva en un paciente que nunca ha salido de España) se debe de sopesar el valor del resultado.

Tabla 2. Parámetros de un test.

Enfermedad		Resultado	
		Si	No
Resultado	+	Verdadero positivo VP	Falso positivo VF
	-	Falso negativo FN	Verdadero negativo VN

$$S = \frac{VP}{VP+FN} \quad E = \frac{VN}{VN+FP} \quad VPP = \frac{VP}{VP+FP} \quad VPN = \frac{VN}{VN+FN}$$

## TÉCNICAS RÁPIDAS Y AUTOMATIZACIÓN

El avance tecnológico en el campo de la inmunología ha permitido el desarrollo y perfeccionamiento de técnicas inmunológicas aptas para el diagnóstico serológico, así como la puesta a punto de sistemas automatizados, capaces de procesar un elevado número de muestras, en poco tiempo y con una calidad excelente. De este modo, las técnicas manuales han quedado relegadas a pruebas de poca demanda, de fácil realización o alta sensibilidad.

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

### Título de un suero.

En los estudios diagnósticos interesa conocer no sólo si el paciente tiene o no anticuerpos frente a un determinado organismo, sino la concentración de los mismos. Para ello, se realizan diluciones seriadas del suero del paciente. El *título del suero* es la última dilución que da reacción positiva. Así un suero con un título 1/256 tendrá más anticuerpos que uno de 1/32. El título es significativo cuando esa concentración se asocia con la enfermedad.

### **Unidades e índices.**

Habitualmente, la medida de los resultados de las pruebas serológicas se expresa en “unidades internacionales” o “unidades arbitrarias”, que se obtienen comparando el valor obtenido en la muestra con un patrón que marca el límite entre los valores positivos y negativos. Con este sistema es difícil comparar datos entre distintos laboratorios. Por ello, se aconseja expresar los resultados en forma de “índice” que es la relación entre el valor de la muestra y el del calibrador. Un índice mayor de 1 corresponde a muestras positivas y si es inferior a negativas.

En una seroconversión el título de anticuerpos entre dos muestras seriadas debe de aumentar al menos cuatro veces o bien entre 1,4-2 si se trata de índices.

### **PERFILES SEROLÓGICOS**

En la práctica clínica, en muchas ocasiones, se requiere estudiar varios microorganismos como posibles agentes etiológicos. Esto se puede realizar mediante perfiles serológicos entre los que cae destacar los siguientes.

#### **Perfil de hepatitis virales.**

El diagnóstico de las hepatitis virales es casi exclusivamente serológico aunque también se realizan determinaciones de RNA, DNA y antígenos virales. Además la serología informa sobre el estadio de la enfermedad y el pronóstico de la misma.

VHA	VHB	VHC
IgM anti-VHA	IgM anti-HBc. IgG anti-HBc. HBsAg, HBeAg. Anti-HBs, Anti-HBe	Anti-VHC

#### **Perfil de VIH.**

El diagnóstico de VIH se hace mediante la detección de anticuerpos por técnicas de ELISA. Si el resultado es positivo hay que confirmarlo mediante Western-blot. En pacientes diagnosticados, durante el seguimiento clínico deben hacerse determinaciones de carga viral.

#### **Perfil para gestantes.**

El objetivo de este perfil es el cribado de las infecciones congénitas para prevenir la transmisión al feto o en su defecto instaurar un tratamiento rápido. Actualmente se recomienda realizar la serología de VIH, sífilis, hepatitis B, toxoplasma y rubéola.

En cuanto al recién nacido, los criterios diagnósticos de infección son:

- Presencia de IgM específica en sangre del cordón o en los días posteriores al nacimiento.
- Persistencia de la IgG a lo largo de los 6-12 meses después del nacimiento.