



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

CARRERA DE LABORATORIO CLINICO

**INFORME DE ESTUDIO DE CASO PREVIO A LA OBTENCIÓN
DEL TITULO DE LICENCIADA EN LABORATORIO CLINICO.**

TEMA:

**DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ESPECIFICOS EN UN PACIENTE
CON HEPATITIS AUTOINMUNE.**

EGRESADA:

GARCÍA PINARGOTE MELISSA LILIBETH

TUTOR:

LCDO. PABLO BARREIRO MACÍAS, MG

PERIDO LECTIVO:

2016- 2017

CUERPO PRELIMINAR

UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

CARRERA DE LABORATORIO CLINICO

TEMA:

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ESPECIFICOS EN UN PACIENTE
CON HEPATITIS AUTOINMUNE.

EGRESADA:

GARCÍA PINARGOTE MELISSA LILIBETH

TUTOR:

LCDO. PABLO BARREIRO MACÍAS, MG

PERIDO LECTIVO:

2016- 2017

APROBACION DEL JURADO DE GRADUACIÓN

Los miembros del Tribunal de Graduación aprueban el análisis de caso clínico, sobre “DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS EN UN PACIENTE CON HEPATITIS AUTOINMUNE” de García Pinargote Melissa Lilibeth, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico.

Manta, 24 de marzo del 2017.

Para constancia firman

Dr. Yuri Medrano

Calificación

Dra. Liliam Escariz.

Calificación

Dra. Isabel Vaca.

Calificación

AUTORIA DEL TRABAJO DE GRADO

Los criterios en el Análisis de Caso Clínico “DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ESPECIFICOS EN UN PACIENTE CON HEPATITIS AUTOINMUNE” como también los contenidos, ideas, análisis, conclusiones y propuesta son de exclusiva responsabilidad de mi persona, como autor de este Trabajo de Grado.

Manta, 24 de marzo del 2017.

LA AUTORA

García Pinargote Melissa Lilibeth

CERTIFICACIÓN

Lcdo. Pablo Barreiro Macías. Mg, Docente asesor de la UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ, certifica que:

El estudio de caso realizado por García Pinargote Melissa Lilibeth, bajo el título **“DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ESPECIFICOS EN UN PACIENTE CON HEPATITIS AUTOINMUNE”** reúne los requisitos de calidad, originalidad y presentación exigibles a una investigación científica y que han sido incorporadas al documento final, las sugerencias realizadas, en consecuencia, está en condiciones de ser sometidas a las valoraciones del Tribuna encargado de juzgarla.

Lcdo. Pablo Barreiro Macías, Mg

DEDICATORIA

Con cariño dedico:

A mi pedacito de cielo

A mi madre

A mis hermanos

A mis amigos

AGRADECIMIENTO

Agradecer habla bien del corazón y hace que tú corazón hable, por ello agradezco infinitamente a Dios por darme la vida y llenarme de bendiciones.

A quienes forman la Universidad Laica Eloy Alfaro De Manabí, de manera en especial a la Facultad de Ciencias Médicas y cada uno de los docentes de la Carrera de Laboratorio Clínico por sus conocimientos impartidos.

A mi familia, de manera en especial a mi madre Teresa, por su apoyo y amor incondicional, por ser fuente de inspiración para no caer y seguir adelante en estos años de estudio.

A mis compañeras de labores, Lucía, Lorena y María Elena, por sus enseñanzas y dedicación; por ser parte fundamental en este proceso formativo.

A mis amigos, que más que eso se convirtieron en hermanos, Alex, Eduardo, Carolayne y Gabriela, por haber compartido conmigo momentos difíciles y agradables durante nuestros años de estudio. Alejandro por ser apoyo incondicional y Darwin por la paciencia y amistad brindada.

ÍNDICE

APROBACION DEL JURADO DE GRADUACIÓN	i
AUTORIA DEL TRABAJO DE GRADO	ii
CERTIFICACIÓN	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
CAPITULO I	1
1. Justificación	1
CAPÍTULO II	3
2. Informe del caso	3
2.1. Definición del caso	3
2.1.1. Presentación del caso	3
2.1.2. Ámbito de estudio	4
2.1.3. Actores implicados	4
2.1.4 Identificación del problema	4
2.2 Metodología	5
2.2.1 Lista de preguntas	5
2.2.2 Fuentes de información	5
2.2.3 Técnicas para la recolección de información	6
2.3 Diagnóstico	6
CAPÍTULO III	12
3. Propuesta de Intervención	12
3.1 Denominación de la propuesta	12
3.2. Objetivos de la propuesta	12
3.3 Fundamentación de la propuesta	12
3.4 Planteamiento de la propuesta	13
3.4.1 Actividades y tareas	14

RESUMEN

La Hepatitis Auto Inmune (HAI) es un proceso inflamatorio del hígado que, librado a su evolución, puede progresar a cirrosis y enfermedad hepática terminal. Se caracteriza por la presencia de auto-anticuerpos, los cuales son inmunoglobulinas dirigidas contra proteínas que se desarrollan cuando, un antígeno propio o extraño es reconocido por los linfocitos B. Para su diagnóstico es imprescindible la detección de auto-anticuerpos mediante pruebas de laboratorio, ya que permite identificar y orientar el tratamiento médico.

Por tal motivo la detección de auto-anticuerpos debe realizarse mediante técnicas llevadas a cabo bajo un estricto proceso de calidad que garantice la precisión, la exactitud y la confiabilidad de los resultados. Este estudio se basa en la detección de anticuerpos, en paciente de sexo femenino diagnosticada con Hepatitis Auto Inmune (HAI), a quien se le realizó análisis de laboratorio mediante la técnica ELISA.

ABSTRACT

Auto Immune Hepatitis (AIH) is an inflammatory process of the liver that, as a result of its evolution, it can progress to cirrhosis and terminal liver disease. It is characterized by the presence of autoantibodies which are immunoglobulins leaded against proteins that develop when an own or foreign antigen is recognized by the B lymphocytes. For its diagnosis, it is essential the detection of autoantibodies through laboratory tests because it allows identifying and guiding the medical treatment.

For this reason, the detection of autoantibodies must be performed using techniques carried out under a strict quality process that guarantees the accuracy and reliability of the results. This study is based on the detection of antibodies in a female patient diagnosed with Auto Immune Hepatitis (AIH), who underwent laboratory analysis using the ELISA technique.

.

CAPITULO I

1. Justificación

La hepatitis autoinmune (HAI) es una entidad descrita por primera vez en 1950 y conocida desde entonces con diferentes términos; previo al año 1992, el Grupo Internacional de Hepatitis Autoinmune recomienda como el término más apropiado para esta enfermedad Hepatitis Autoinmune (HAI) por sobre las otras denominaciones que tenía la enfermedad. Esta patología se define como una inflamación del hígado generalmente persistente o no resuelta de origen desconocido. Se presenta en todas las razas y en todas las áreas geográficas del mundo. La edad promedio inicial es de cuarenta años, pero es muy variable dentro el primero y los ochenta años de vida. Según datos estadísticos las mujeres tienen mayor incidencia en la enfermedad, cuya razón de sexo es de 3.6:1 (Prieto, Preciado y Huertas, 2001).

En el Ecuador, la cirrosis hepática y las enfermedades del hígado, son la novena causa de muertes en hombres y es la décima causa en mujeres. Según el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC), la tasa de mortalidad en el 2014 fue de 9.98 por cada 100.000 en mujeres, mientras que en hombres fue de 15.5 por cada 100.000.

Considerando que el cuadro clínico es insidioso y con síntomas inespecíficos el diagnóstico de la Hepatitis Autoinmune se confirma normalmente mediante la identificación de anticuerpos característicos, estos son inmunoglobulinas que están contra proteínas normales del huésped y su presencia en las enfermedades hepáticas implica que ciertos mecanismos inmunológicos han sido activados. Aunque estos no son los responsables de la patogenia de la Hepatitis Autoinmune, son importantes

marcadores serológicos para el diagnóstico de la enfermedad (Montaño y Angulo, 2007).

Para la determinación de Auto-anticuerpos, es necesario llevar a cabo pruebas inmunológicas específicas contribuyendo al diagnóstico de la enfermedad. Los Auto-anticuerpos característicos que se encuentran en los pacientes con Hepatitis Autoinmune incluyen los anticuerpos antinucleares (ANA), anticuerpos anti músculo liso (SMA) anticuerpos microsomales hígado-riñón tipo 1 (anti – LKM1) o anti – citosol hepático tipo 1 (anti – LC1) (Morillas y Planas, 2000)

Bielsa (2010), asegura que los anticuerpos tienen en determinadas ocasiones un importante interés diagnóstico, en otras, un valor pronóstico; y a veces, una gran utilidad en el seguimiento de estas enfermedades de tal manera que rentabilizan al máximo la utilidad clínica de estos anticuerpos, resulta imprescindible, por un lado, familiarizarse con las técnicas de laboratorio que en la práctica se llevan a cabo para la identificación de estos marcadores inmunológicos y, por otro, conocer la asociación de los diferentes anticuerpos con cada una de las enfermedades autoinmunes.

El presente estudio se basa en la historia clínica de una mujer de 32 años diagnosticada con Hepatitis Autoinmune, a su vez en análisis de laboratorio, realizados con la finalidad de determinar la presencia o ausencia de Auto-anticuerpos, los cuales juega un papel muy importante en la detección previa de la Hepatitis Autoinmune ya que permite identificar, clasificar y orientar hacia el tratamiento adecuado.

CAPÍTULO II

2. Informe del caso

2.1. Definición del caso

El presente caso a estudiar, se basa en una mujer de 32 años, oriunda de la ciudad de Jipijapa en la provincia de Manabí, a la cual diagnosticaron con Hepatitis Autoinmune hace cuatro años. A pesar de su temprana edad, la detección de Anticuerpos Específicos mediante pruebas inmunológicas ha sido de gran aporte para orientar a la evolución y el tratamiento de su enfermedad.

2.1.1. Presentación del caso

La detección de Anticuerpos Específicos tiene una importante validez en el diagnóstico de Hepatitis Autoinmune, y constituye una de las pruebas de laboratorio clínico más importantes en la valoración de esta patología, de tal manera que rentabiliza al máximo la utilidad clínica de los Auto-anticuerpos. Por tal motivo, el análisis de laboratorio tiene un papel importante y debe ser realizado bajo estrictos controles de calidad, para garantizar la confiabilidad de los resultados y permitir identificar y orientar hacia el tratamiento adecuado.

2.1.2. Ámbito de estudio

De acuerdo a la información obtenida en base a este estudio, los ámbitos a intervenir son la historia clínica de la paciente, que incluyen análisis químicos e inmunológicos obtenidos durante la evolución de la enfermedad. A su vez, se realizaron análisis inmunológicos a la paciente para la detección de Auto-anticuerpos, las cuales fueron realizadas, emitiendo resultados confiables, de manera que aporta significativamente a la historia clínica de la paciente.

2.1.3. Actores implicados

Los actores implicados en este estudio, corresponden a la paciente, mujer de 32 años radicada en la ciudad de Jipijapa, diagnosticada con Hepatitis Autoinmune.

2.1.4 Identificación del problema

La determinación de auto-anticuerpos para el diagnóstico de la hepatitis autoinmune mediante el método de ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sobernt Assay) que consiste en un ensayo por Immuno-adsorción ligado a enzimas porque tiene como principal objetivo poner en manifiesto la presencia de anticuerpos y antígenos específicos en una muestra de sangre, representa una prueba de laboratorio clínico fundamental, que sirve como indicador para el diagnóstico médico de este problema de salud, que contribuye al seguimiento adecuado, mejor tratamiento y evolución de la paciente.

Por esta razón la determinación de auto-anticuerpos mediante el método ELISA debe realizarse con el menor grado de incertidumbre, lo cual garantice el resultado de laboratorio preciso, exacto y confiable. Por tanto, se determina como problema la

incertidumbre en la calidad interna y externa relacionado con la determinación de auto-anticuerpos mediante el método de ELISA.

Cabe destacar que en el laboratorio clínico Los Esteros en la ciudad de Manta, para garantizar la confianza y la precisión de la determinación de auto-anticuerpos específicos mediante la técnica de Elisa, se realiza controles de calidad interno y controles de calidad externos.

2.2 Metodología

2.2.1 Lista de preguntas

¿Es de suma importancia la detección de auto anticuerpos en pacientes con Hepatitis Autoinmune?

¿En base a qué pruebas inmunológicas se determina el diagnóstico de Hepatitis Autoinmune?

¿Cuáles de los auto-anticuerpos son de mayor relevancia en el diagnóstico de la Hepatitis Autoinmune?

2.2.2 Fuentes de información

Este trabajo realizado, se basa en información obtenida mediante entrevistas, textos especializados, escritos científicos, registros e historia clínica de paciente con Hepatitis Autoinmune.

- Anticuerpos en las Enfermedades Hepáticas
- Hepatitis Autoinmune
- Significado Biológico de los auto-anticuerpos y técnicas para su detección.

2.2.3 Técnicas para la recolección de información

Para la realización de este trabajo se usó como técnica la entrevista dirigida a un paciente con Hepatitis Autoinmune, con la finalidad de obtener información relacionada con la presencia de Hepatitis Autoinmune.

También se utilizó la observación de campo con el propósito de evidenciar los equipos, técnicas, reactivos, controles de calidad, valoración de resultados y entrega de informes relacionados con la determinación de auto-anticuerpos.

Las pruebas inmunológicas para la detección de Auto-anticuerpos se realizan por diferentes formas, tanto por Inmunofluorescencia indirecta (IFI), la cual es más sensible y determina patrones de tinción asociados a diferentes enfermedades; y por método ELISA, que consiste en un ensayo por Immuno-adsorción ligado a enzimas.

Los fundamentos de las técnicas de IFI y ELISA son similares ya que ambas pueden cuantificarse. Pero cabe recalcar que la técnica ELISA tiene numerosas ventajas, es barata, rápida de realizar, se pueden analizar un gran número de sueros a la vez, su interpretación es menos subjetiva y es muy sensible. Se basa en el uso de antígenos y anticuerpos marcados con una enzima de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática.

2.3 Diagnóstico

Ciocca, Bastianelli, Nacif, et al (2016) señala que la Hepatitis Autoinmune (HAI) es un proceso inflamatorio hepático crónico, de etiología desconocida, que librado a su evolución espontánea puede progresar a cirrosis y enfermedad hepática terminal.

Por su parte, Montaña (2007), expresa que los auto-anticuerpos representan una manifestación no patogénica de reactividad inmune que puede presentarse en las enfermedades agudas y crónicas del hígado y parecen ser consecuencia más que causa del daño hepático, por lo que deben utilizarse como herramientas de diagnóstico, más que marcadores etiológicos.

Morínigo, Ayala, Morel et (2015) recalcan que el diagnóstico de la Hepatitis Autoinmune se basa en un sistema de puntuación desarrollado por el Grupo Internacional de Hepatitis Autoinmune en 1999 y revisada en el 2010. (Tabla I)

Anticuerpos		Puntajes
ANA o Anti-músculo liso	≥ 40	+1
ANA o Anti-músculo liso	≥ 80	+2
Anti-LKM1	≥ 40	+2
Anti antigen hepático o soluble	Positivo	+2
	Ninguno	0
Nivel de Inmunoglobulina		
IgG	>Mayor al valor normal	+1
	>1.1 mayor al valor normal	+2
	Normal	0
Histología		
Datos morfológicos de HAI	Compatible	+1
	Típico	+2
	Incompatible	0
Enfermedad Viral		
Ausencia de Hepatitis Viral	Sin marcadores virales	+2
	Marcadores virales +	0
Puntuación pre-tratamiento	Diagnóstico definitivo	≥ 7
	Diagnostico probable	6

Tabla 1: Sistema de puntuación simplificado del Grupo Internacional de Hepatitis Autoinmune.

En este estudio la paciente de 32 años, diagnosticada con Hepatitis autoinmune, empezó con síntomas inespecíficos de la enfermedad como debilidad, náuseas, dolor abdominal,

dolor articular. Posterior a eso, se evidenció mediante análisis clínicos de laboratorio, niveles altos de transaminasas, así como elevación de bilirrubinas, Gamma-glutamil transpeptidasa, fosfatasa alcalina, e Inmunoglobulina IgG.

A su vez se enviaron a realizar análisis inmunológicos para determinar la presencia de anticuerpos específicos tales como anticuerpos antinucleares (ANA), anticuerpos anti musculo liso (SMA), anticuerpos microsomales hígado-riñón tipo 1 (anti-LKM1).

Exámenes de laboratorio llevados a cabo en el año 2013 determinaron que de los auto-anticuerpos mencionados el anti-músculo liso (SMA) dio positivo mediante método de Inmunofluorescencia (IFI) dando como resultado 1:20 siendo considerando como valores de referencia 1:10 o mayor.

Estos anticuerpos están dirigidos frente a componentes de actina, tubulina y filamentos intermedios, son detectados en secciones de riñón, estómago e hígado (...) A pesar de ser menos prevalentes que los ANA, son más específicos, siendo ésta mucho mayor si se comprueba que son antiactinas. (Ciocca, et al., 2016).

A su vez los anticuerpos antinucleares (ANA) también fueron detectados mediante pruebas de laboratorio, los cuales pueden presentarse en varias enfermedades hepáticas y no hepáticas y constituyen el marcador prototipo de la reactividad inmunológica.

Montaño y Angulo (2007), mencionan que los ANA son los anticuerpos más característicos de la hepatitis autoinmune y en estos pacientes la reactividad nuclear no tiene correlación con el patrón homogéneo o moteado que se observa en la Inmunofluorescencia indirecta, además carecen de especificidad diagnóstica o valor pronóstico.

Este estudio en base a la historia clínica de la paciente tuvo como factores que favorecieron al diagnóstico oportuno de la enfermedad el sexo femenino, la historia negativa a consumo de drogas, serología negativa para hepatitis viral, la presencia de enfermedad autoinmune concomitante, no ingesta de etanol, la presencia de autoanticuerpos positivos, la hipergammaglobulinemia (específicamente la elevación de la IgG) y la presencia de infiltrado de células plasmáticas en la biopsia hepática.

Cabe recalcar que la presencia de algún auto-anticuerpo justifica la inclusión de las enfermedades autoinmunes del hígado, en el diagnóstico final debe de estar apoyado por otras pruebas de laboratorio, evaluación histológica y la exclusión de otras enfermedades hepáticas. (Montaño y Angulo, 2007). Por tal motivo antes de que se enviara a realizar los estudios patológicos pertinentes la detección de los anticuerpos específicos en la paciente fue determinante para llegar a la valoración de la Hepatitis Autoinmune y así diagnosticar la enfermedad para luego empezar con el tratamiento conveniente.

En la actualidad se realizaron análisis de laboratorio por método ELISA teniendo como principal objetivo poner a manifiesto la presencia de anticuerpos específicos en una muestra de sangre de la paciente.

Al estar uno de los componentes (Ag o Ac) marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte o pocillo (Inmunoabsorbente) la reacción Ag-Ac quedará inmovilizada y por tanto será fácilmente revelada mediante la adición de un substrato específico que al actuar la enzima producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro o un colorímetro. Los resultados finales de la lectura colorimétrica se reflejan numéricamente mediante valores de absorbancia o densidad óptica que se obtendrán a la longitud de onda más adecuada para la coloración final alcanzada.

Entre estas pruebas se efectuó la de ANA mediante la técnica de HUMAN la cual es objetiva, semicuantitativa y es adecuada para testar a gran variedad de pacientes. La prueba se basa en la inmovilización covalente de núcleos de células HeLa, aislados cuidadosamente por centrifugación en gradiente de densidad, a la fase sólida de tiras de micropocillos y la unión subsiguiente de ANA del suero del paciente para la detección de los Anticuerpos unidos, se utiliza un anticuerpo anti IgG, IgM e IgA humana conjugado con peroxidasa.

Luego de efectuada la técnica se obtuvo como resultado 58.10 U/ml considerado positivo a los valores por encima de 55 U/ml. (Anexo 3).

De igual manera se efectuó el análisis de laboratorio para la detección de Anticuerpos Anti Mitocondriales (AMA) mediante técnica de HUMAN (IMTEC-AMA-M2) el cual es un inmunoensayo enzimático indirecto en fase sólida (ELISA) para la determinación cuantitativa de auto-anticuerpos de clase IgG contra antígenos mitocondriales en suero humano. La prueba se basa en la inmovilización del complejo piruvato deshidrogenasa (CPD) a la fase sólida de tiras de micropocillos y la unión subsiguiente de AMA M2 de suero del paciente. Para la detección de los anticuerpos unidos, se utiliza un anticuerpo anti IgG humana conjugado con peroxidasa.

Luego de realizada la técnica se obtuvo como resultado 21.0 U/ml dando negativo, ya que se considera positivos resultados por encima de 10 U/ml. (Anexo 3).

Además de las pruebas anteriores también se efectuó la prueba para detectar Anticuerpos Anti-músculo liso por técnica QUANTA lite (Actin IgG ELISA) para la detección semi-cuantitativa de anticuerpos IgG contra el componente de actina del músculo liso en suero humano.

Luego de ejecutar la prueba se obtuvo resultado de 32.5 U/ml cuya interpretación es positiva considerando que valores superiores a 30 U/ml son positivos. (Anexo 3).

Considerando la importancia de la detección de Auto-anticuerpos para el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad se realizaron las pruebas inmunológicas con responsabilidad, tomando en cuenta la variedad de factores que influyen en la realización de la misma, de esta manera se efectuaron mediante estándares de calidad.

En la actualidad, el análisis de la historia clínica de la paciente con hepatitis autoinmune, revela que se encuentra en constantes controles y tratamiento médico y su estado de salud al momento es estable.

Por todo lo expuesto, se destaca la importancia del laboratorio clínico a través de la determinación de auto-anticuerpos, la cual se constituye en un indicador fundamental para el diagnóstico de este problema de salud, un adecuado seguimiento y mejor tratamiento y evolución.

CAPÍTULO III

3. Propuesta de Intervención

3.1 Denominación de la propuesta

Determinación del grado de incertidumbre en la determinación de auto-anticuerpos mediante el método de Elisa a través de controles de calidad interno y externo.

3.2. Objetivos de la propuesta

1. Determinar el grado de incertidumbre en la determinación de auto-anticuerpos mediante el método de ELISA a través de controles de calidad interno y externos.

3.3 Fundamentación de la propuesta

Como hemos mencionado anteriormente el diagnóstico de la Hepatitis Autoinmune se confirma mediante la identificación de los Auto-anticuerpos, aunque muchas veces no se encuentran en el plasma del paciente pueden aparecer en cuanto avanza la enfermedad de tal manera no se podría tampoco descartar una Hepatitis Autoinmune por la ausencia o presencia de valores bajos.

En base a lo realizado, las pruebas que precisan la detección de Auto-anticuerpos son ejecutadas mediante técnica de ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay), que consiste en ensayos por Inmuno-adsorción ligado a enzimas o por Inmunofluorescencia

indirecta, aunque ELISA sea una prueba con numerosas ventajas ya que se pueden analizar varios sueros a la vez, es una técnica menos específica (falsos positivos) y los resultados deben interpretarse con cautela de tal manera que el laboratorista clínico debe cumplir con todos los estándares de control de calidad en todas las fases en las que se realizan las pruebas.

Se debe de considerar los factores que influyen en la realización del ensayo, esto incluye, la temperatura inicial de los reactivos, la temperatura ambiente, la exactitud en técnicas de pipeteo, un lavado incompleto o ineficiente, tiempos de incubación, por tal motivo es necesario un exquisito cuidado y un trabajo consistente para obtener resultados exactos.

Para llevar a cabo las pruebas inmunológicas, se necesita valorar la precisión de los resultados mediante controles y estudio de comparación pre-analítico, analítico y post-analítico, que se efectúan en el laboratorio clínico en la realización de las mismas, de esta manera se garantizará la efectividad del análisis clínico.

3.4 Planteamiento de la propuesta

De acuerdo a lo establecido anteriormente la determinación de los Auto-anticuerpos para el diagnóstico de la Hepatitis Autoinmune es de suma importancia, de tal manera que la identificación de los mismos permite reconocer el tipo de Hepatitis Autoinmune que presenta el paciente. Ya sea tipo I en quienes se presentan los anticuerpos ANA y SMA o del tipo II en cuales predominan los anticuerpos anti-microsoma de hígado y riñón (LKM1) y anticuerpos anti-citosol hepático (LC1).

Para determinar los auto-anticuerpos presentes en el suero se debe efectuar el procedimiento adecuado de las técnicas tomando las debidas precauciones ya que el

mínimo error puede desencadenar resultados desacertados. Es responsabilidad de cada laboratorio de validar sus procedimientos y comprobar que produce resultados dentro de los límites aceptables, ya que muchos factores influyen en la realización del ensayo, desde la toma de muestra hasta la lectura de la misma, por lo que se recomienda seguir estrictamente el protocolo de la técnica y las recomendaciones de almacenaje para garantizar la eficacia de los resultados.

Es por esto, que se resalta la importancia en la disminución del grado de incertidumbre, en la determinación de los anticuerpos y su análisis en la detección temprana de la enfermedad, convirtiéndose en punto de referencia clave para medir el desarrollo de la misma.

3.4.1 Actividades y tareas

Objetivo Específico	Actividad Vinculada	Tareas a desarrollar
Determinación del grado de incertidumbre en la determinación de auto-anticuerpos mediante el método de Elisa e Inmunofluorescencia través de controles de calidad interno y externo.	Valoración de la calidad en la fase pre-analítica en la determinación de auto-anticuerpos.	<ul style="list-style-type: none"> • Valoración del registro de datos del paciente. • Valoración de la recolección de muestras. • Garantía del traslado y almacenaje de la muestra.
	Valoración de la calidad en la fase analítica en la determinación de auto-anticuerpos.	<ul style="list-style-type: none"> • Controles de temperatura. • Atención a las actualizaciones de las técnicas y su interpretación

		<ul style="list-style-type: none"> • Garantía del procedimiento de la prueba.
	<p>Valoración de la calidad en la fase post-analítica en la determinación de auto-anticuerpos.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Valoración y validación de resultados • Informe de reporte y valores. • Confidencialidad.

Tabla 2: Tabla de actividades y tareas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Bielsa, I. (2010). Significado biológico de los autoanticuerpos y técnicas para su detección. *Medicina Cutanea Ibero-Latino-Americana*, 38(3), 109–116.
- Montaño, A., & Angulo, P. (2007). Anticuerpos En Las Enfermedades Hepáticas. *Revista Gastroenterologia de Mexico*, 72(1), 62–68. Retrieved from <http://www.medigraphic.com/pdfs/gastro/ge-2007/ge071m.pdf>
- Morillas, R., & Planas, R. (2000). Hepatitis autoinmune. *Revista Cubana de Medicina*, 39(1), 49–56. [http://doi.org/10.1016/S1577-3566\(08\)74608-6](http://doi.org/10.1016/S1577-3566(08)74608-6)
- Nutrición, H., Slaghn, P., Ciocca, M., Bastianelli, C., Nacif, P., Porta, G., ... Rumbo, C. (2016). Hepatitis autoinmune en la infancia . Grupo de, 46(3), 237–245.
- Prieto, J., Preciado, J., & Huertas, S. (2012). Hepatitis Autoinmune. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 27(4). <http://doi.org/10.1038/nrgastro.2011.69>
- Ortiz, J., Ayala, Z. M., Garcete, L., & Paranza, L. O. (2015). Hepatitis Autoinmune en niños en un Hospital de Tercer Nivel .Reporte de casos Autoimmune Hepatitis in Children in a Tertiary Care, 42, 48–53.

ANEXOS

Anexo 1

UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ FACULTAD CIENCIAS MÉDICAS CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ESPECIFICOS EN UN PACIENTE CON HEPATITIS AUTOINMUNE

La información proporcionada será utilizada de manera confidencial. Garantizamos nuestra absoluta discreción, empleando su información netamente como datos informativos para llevar a cabo el trabajo investigativo.

Entrevista a paciente

1. ¿Qué edad tiene usted?

- a) 18-20 años
- b) 21-30 años
- c) Más de 30 años

2. ¿Hace cuántos años fue diagnosticada con Hepatitis Autoinmune?

3. ¿Está usted en continuo control médico?

- a) Sí
- b) No

4. ¿Con que frecuencia se realiza usted sus controles médicos?

- a) Cada mes
- b) Cada 6 meses
- c) Cada año

¿Con que frecuencia se realiza usted controles de exámenes de laboratorio?

- a) Cada mes
- b) Cada 6 meses
- c) Cada año

Anexo 2

LABORATORIO CLINICO GAMMA
Transparencia y calidad siempre a su servicio

PONTIOMELO
- Maternidad, Neonatología y Ambulancia
- Clínica Materno Infantil de la Infancia y Adolescencia
- Clínica del Adulto ATENCION LAS 24 HORAS
- Pauta de Emergencias y Atención Transparencia
- Av. 25 de Mayo 10

Resultados en línea
www.gamma.cl
Horarios y Dirección
1967 - Santiago 4000
FAX: 55 8 00 1 1

12 Paciente: viernes, 25 de octubre de 2013 (07:57)
Srta. **Maria Lorena Yoza Sudrez** Edad: 28 AÑOS
Médico: **Dr. Ramón Palma Franco** Análisis: AV 304850 Sexo: Femenino Historia: 285481

Resultados	Valores de referencia**
ESTUDIO DE ANEMIAS	
Hierro 88.4 ug/dl	30.0 - 160.0
Transferrina 329 mg/dl	230 - 430
Índice de Saturación 26.9 %	20.0 - 55.0
Ferritina (ECLIA) 116.7 ng/ml	Hombres: 20 - 435 Mujeres Cíclicas: 15 - 150 Mujeres Menopáusicas: 25 - 280
EXAMENES INMUNOLOGICOS	
Alfa-1-Antitripsina 155.0 mg/dl	88.0 - 174.0
Ceruloplasmina 43.2 mg/dl	22.0 - 58.0
ENFERMEDADES INFECCIOSAS	
Anti-HBc total (ELFA) NO REACTIVO	
ESTUDIOS ELECTROFORETICOS	
Electroforesis Capilar de Proteínas en Suero	
Proteínas totales 8.44 g/dL	1.20 - 2.20
Relación A/G 1.27	55.8 - 66.1
Albumina 55.0 %	2.9 - 4.9
Alfa-1 Globulinas 2.4 %	7.1 - 11.8
Alfa-2 Globulinas 8.1 %	4.2 - 7.2
Beta1-Globulinas 5.8 %	3.2 - 6.5
Beta2-Globulinas 6.2 %	11.1 - 18.8
Gamma-Globulinas 21.6 %	
Comentario: Patrón Normal	
AUTOINMUNIDAD	
Ac. Anti-Músculo Liso (IF) POSITIVO 1:20	Positivo: 1:10 o mayor
Anti-Mitocondriales IF1 NEGATIVO	Positivo: 1:10 o mayor
ANCA C/P (IFI) NEGATIVO	Negativo: Menor a 1:20 Positivo: 1:20 o Mayor
Anti-Transglutaminasa IgA EIA 8.90 U/ml	Negativo: 0 - 20 Indeterminado: 20-25 Positivo: > 25

** Los valores de referencia de este informe en la mayoría de los casos se muestran de acuerdo a la edad y sexo.
Las determinaciones de laboratorio obtenidas no son consideradas como apoyo al diagnóstico y su interpretación correlacionada con la historia clínica y evaluación particular de cada paciente.

SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD CON CERTIFICACIÓN ISO 9001:2008

Anexo 3

LABORATORIO CLINICO LOS ESTEROS

HEMATOLOGIA AUTOMATIZADA
BIOQUIMICOS AUTOMATIZADOS
PARASITOLOGICOS, UROANALISIS
PRUEBAS ESPECIALES, INMUNOLOGICOS,
AREA EXCLUSIVA PARA MICROBIOLOGIA

NOMBRE DEL PACIENTE: YOZA SUAREZ MARIA LORENA
EDAD: 31 AÑOS
DR (A):
FECHA: MANTA, ENERO 27 DEL 2017

DETERMINACIONES INMUNOLOGICAS

PRUEBA	RESULTADO	UNIDADES	VALORES DE REFERENCIA
Método: E.L.I.S.A.			
Anticuerpos Antinucleares (ANA)	58.10	U/mL	Negativo: menor a 40 Indeterminado: 40-55 Positivo: mayor a 55
Anticuerpos Anti mitocondriales (AMA)	21.0	U/mL	Negativo: menor a 5 Indeterminado: 50-10 Positivo: mayor a 10
Anticuerpos Anti músculo liso	32.5	U/ml	Negativo: menor a 20 Indeterminado: 20-30 Positivos: mayor a 30

MANTA, LOS ESTEROS-CALLE 118 AV. 103 TLFNO: 2383-080 2382-850
e-mail: clinicalpsest@hotmail.com

Anexo 4



Anexo 5



Anexo 6



Anexo 7

TÉCNICA DE HUMAN PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES (ANA)

Materiales necesarios no incluidos

- Micropipetas para 5, 100, 200-300 y 500 ul
- Puntas desechables para micropipeta
- Agua destilada
- Recipiente de 1 L para solución de lavado reconstruida
- Lector de microplacas

Reactivos y contenidos

- Tiras de Micropocillos (MTP)
- Calibradores IgMAM (CAL)
- Suero control negativo (NC)
- Suero control positivo (PC)
- Buffer de lavado (WASH)
- Buffer de dilución (DIL)
- Solución de conjugado (CON)
- Solución TMB (SUB)
- Solución de parada (STOP)

Muestras

- Suero del paciente
Diluir sueros (agregar 10 ul de suero a 1 ml de Buffer de dilución)

Procedimiento

- Pipetear 100 ul de muestra diluida.
- Incubar 1 hora a temperatura ambiente
- Lavar 3 veces usando 300 ul de WASH por pocillo
- Remover el líquido invirtiendo los micropocillos sobre papel o tela absorbente
- Pipetear 100 ul de conjugado y cubrir
- Incubar 30 minutos a temperatura ambiente
- Lavar 3 veces usando 300 ul de WASH por pocillo
- Pipetear 100 ul de conjugado y cubrir
- Incubar 30 minutos a temperatura ambiente
- Echarla solución de los micropocillos y lavar 3 veces usando 300 ul de WASH por pocillo.
- Pipetear 100 ul de Solución TMB e incubar 10 min.
- Agregar 100 ul de STOP por pocillos
- Leer la absorbancia a 450 nm dentro de los 10 min siguientes a la adición de la solución de parada.

Interpretación de resultados

- Resultados debajo de 40 U/ml se consideran negativos. Resultados entre 40-55 U/ml son equívocos y por encima de 55 U/ml positivos

Anexo 8

TÉCNICA DE HUMAN PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTIMITOCONDRIALES (AMA)

Materiales necesarios no incluidos

- Micropipetas para 5, 100, 200-300 y 500 ul
- Puntas desechables para micropipeta
- Agua destilada
- Recipiente de 1 L para solución de lavado reconstruida
- Lector de microplacas

Reactivos y contenidos

- Tiras de Micropocillos (MTP)
- Calibradores IgMAM (CAL)
- Suero control negativo (NC)
- Suero control positivo (PC)
- Buffer de lavado (WASH)
- Buffer de dilución (DIL)
- Solución de conjugado (CON)
- Solución TMB (SUB)
- Solución de parada (STOP)

Muestras

- Suero del paciente
Diluir sueros (agregar 10 ul de suero a 1 ml de Buffer de dilución)

Procedimiento

- Pipetear 100 ul de muestra diluida.
- Incubar 1 hora a temperatura ambiente
- Lavar 3 veces usando 300 ul de WASH por pocillo
- Remover el líquido invirtiendo los micropocillos sobre papel o tela absorbente
- Pipetear 100 ul de conjugado y cubrir
- Incubar 30 minutos a temperatura ambiente
- Lavar 3 veces usando 300 ul de WASH por pocillo
- Pipetear 100 ul de conjugado y cubrir
- Incubar 30 minutos a temperatura ambiente
- Echarla solución de los micropocillos y lavar 3 veces usando 300 ul de WASH por pocillo.
- Pipetear 100 ul de Solución TMB e incubar 10 min.
- Agregar 100 ul de STOP por pocillos
- Leer la absorbancia a 450 nm dentro de los 10 min siguientes a la adición de la solución de parada.

Interpretación de resultados

- Resultados debajo de 5 U/ml son negativos. Resultados entre 5-10 U/ml son equívocos y por encima de 10 U/ml positivos.

Anexo 9

TÉCNICA DE QUANTA lite PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-MUSCULO LISO (SMA)

Materiales necesarios no incluidos

- Micropipetas para 5, 100, 200-300 y 500 ul
- Puntas desechables para micropipeta
- Agua destilada
- Recipiente de 1 L para solución de lavado reconstruida
- Lector de microplacas

Reactivos y contenidos

- Tiras de Micropocillos (MTP)
- Calibradores IgMAM (CAL)
- Suero control negativo (NC)
- Suero control positivo (PC)
- Buffer de lavado (WASH)
- Buffer de dilución (DIL)
- Solución de conjugado (CON)
- Solución TMB (SUB)
- Solución de parada (STOP)

Muestras

- Suero del paciente
Diluir sueros (agregar 10 ul de suero a 1 ml de Buffer de dilución)

Procedimiento

- Agregar 100 ul de los controles prediluidos
- Cubrir e incubar 30 minutos a temperatura ambiente
- Aspirar el contenido de cada pocillo. Agregar 200-300 ul de solución de lavado a todos pocillos y aspirar. Repetir esta secuencia 2 veces más
- Remover el líquido remanente invirtiendo los pocillos sobre papel absorbente
- Agregar 100 ul de conjugado IgG HRP a cada pocillo
- Incubar 30 minutos
- Repetir el lavado
- Agregar 100 ul de Cromógeno TMB a cada pocillo e incubar 30 minutos en oscuridad a temperatura ambiente
- Agregar 100 ul de solución de parada a cada pocillo
- Leer la absorbancia de cada pocillo a 450 nm en un plazo máximo de 1 hora.

Interpretación de resultados

- Resultados debajo de 20 U/ml son negativos. Resultados entre 20-30 U/ml son equívocos y superiores a 30 U/ml son positivos.