



VI

CONGRESO LATINOAMERICANO DE BIOQUIMICA CLÍNICA

II

CONGRESO INTERNACIONAL DEL COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA

¡El riesgo es que te quieras quedar!

Cartagena, Colombia 3 al 6 OCTUBRE 2024

Diagnóstico de las MATS por el laboratorio

Diagnóstico de las MATS por el laboratorio

Gloria Ramos Ramos

Bacteriologa Clínica Especialista en
Hemostasia

Epidemióloga y Especialista en docencia
universitaria

Docente de Hemato-oncología U. Nacional

Directora Científica H&H Lab.

Consultora externa de hemostasia

Líder del comité científico de Hemostasia
Latam CLAHT-FMH



Declaración de conflicto de intereses

Ninguno para esta conferencia

“La información y las opiniones expresadas en la presentación, son propiedad y responsabilidad del conferencista”.

No he empleado sistemas de inteligencia artificial para esta conferencia





MATS

PAÍSES PARTICIPANTES





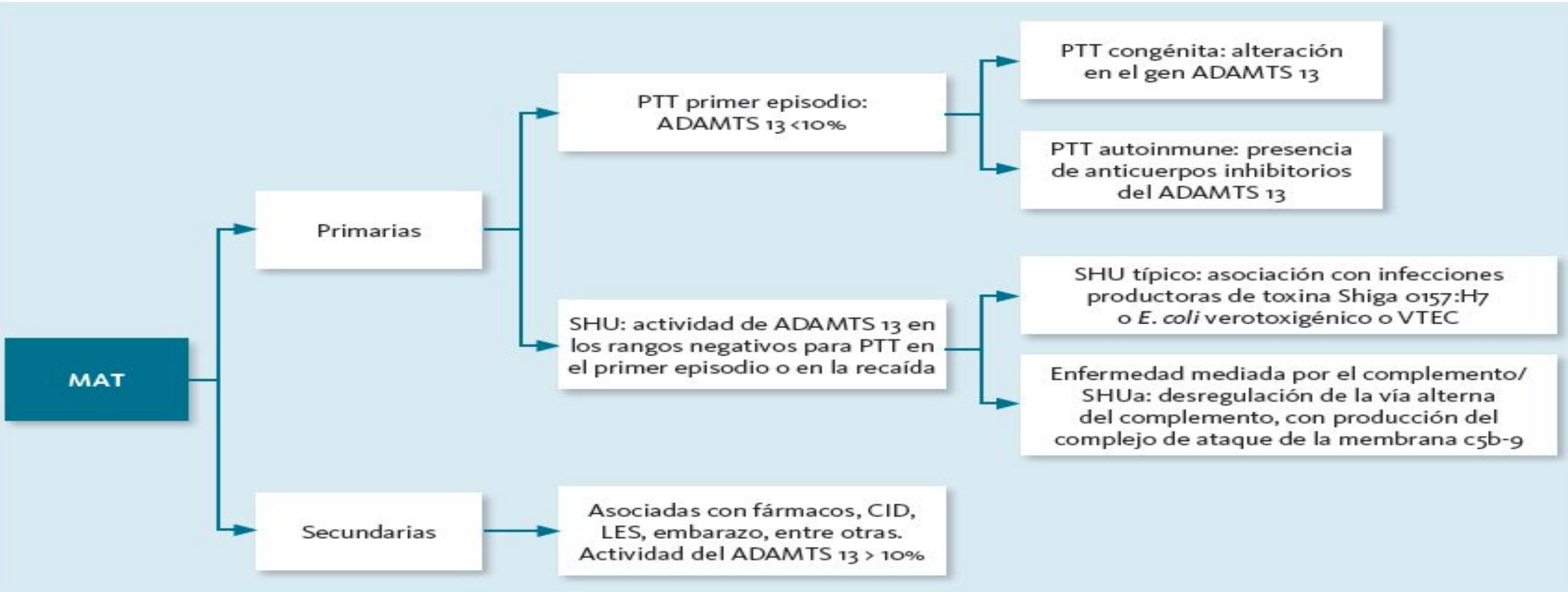
Cartagena, Colombia 3 al 6 OCTUBRE 2024

Definición de Microangiopatías Trombóticas MAT

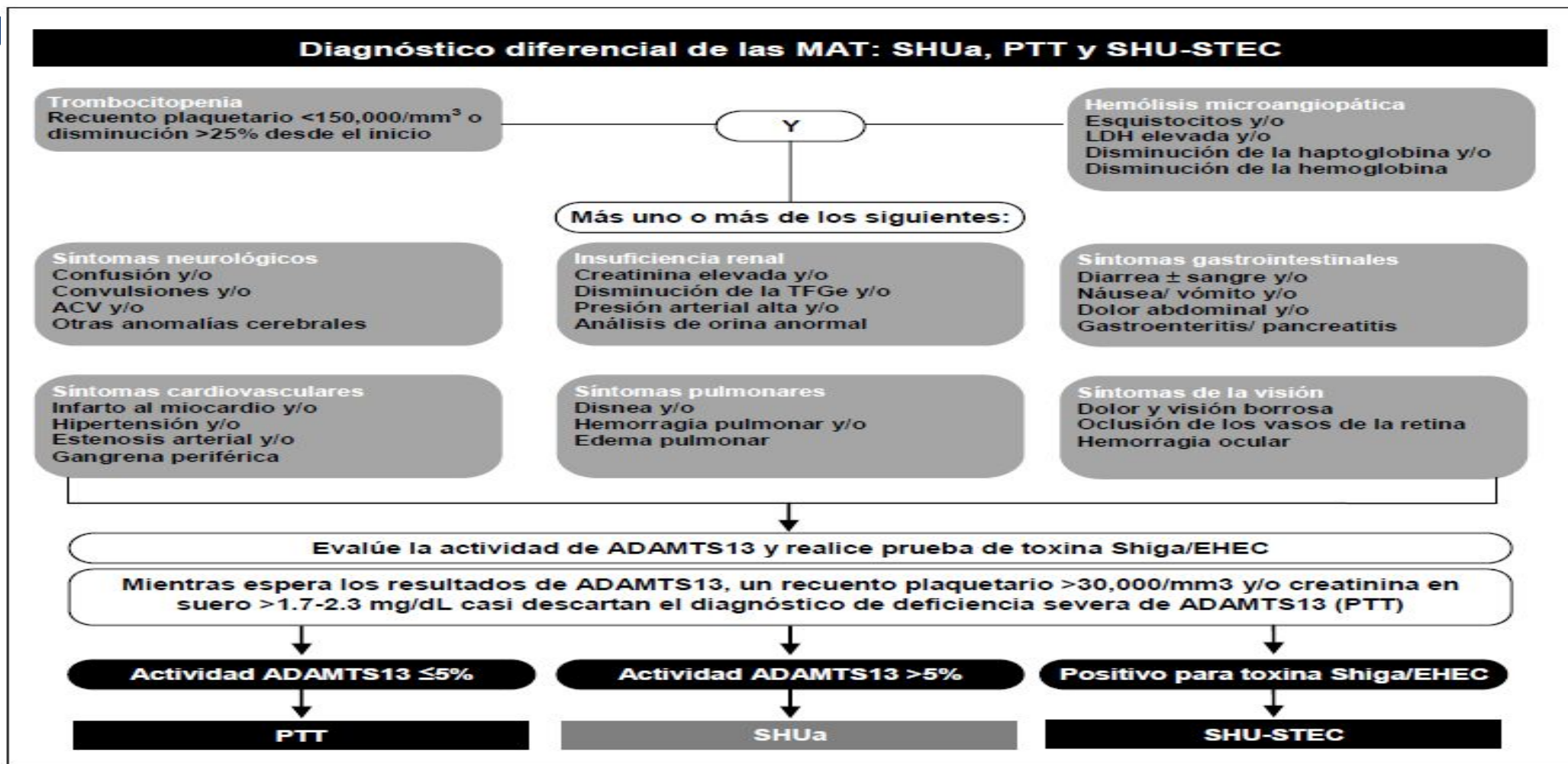
- La MAT es un síndrome de manifestación heterogénea, de origen, tanto hereditario como adquirido, cuyo fundamento patológico es la lesión vascular de pequeños vasos en la que se comprometen el endotelio vascular y con manifestación clínica trombosis arteriolar y capilar.
- MAT se utiliza para describir las condiciones clínicas que se caracterizan por la trombocitopenia, AHMA, Coombs directo negativo, pruebas de coagulación normales y compromiso isquémico de múltiples órganos (Riñon, SNC, SCV, TGI).
- Las MAT presentan baja prevalencia y alta variabilidad en la práctica clínica.
- Su manejo requiere de una intensa movilización de los recursos en salud.
- La mortalidad asociada es alta, y puede alcanzar entre el 72% y el 94%.
- El objetivo es reconocerlas tempranamente y darles el manejo correcto



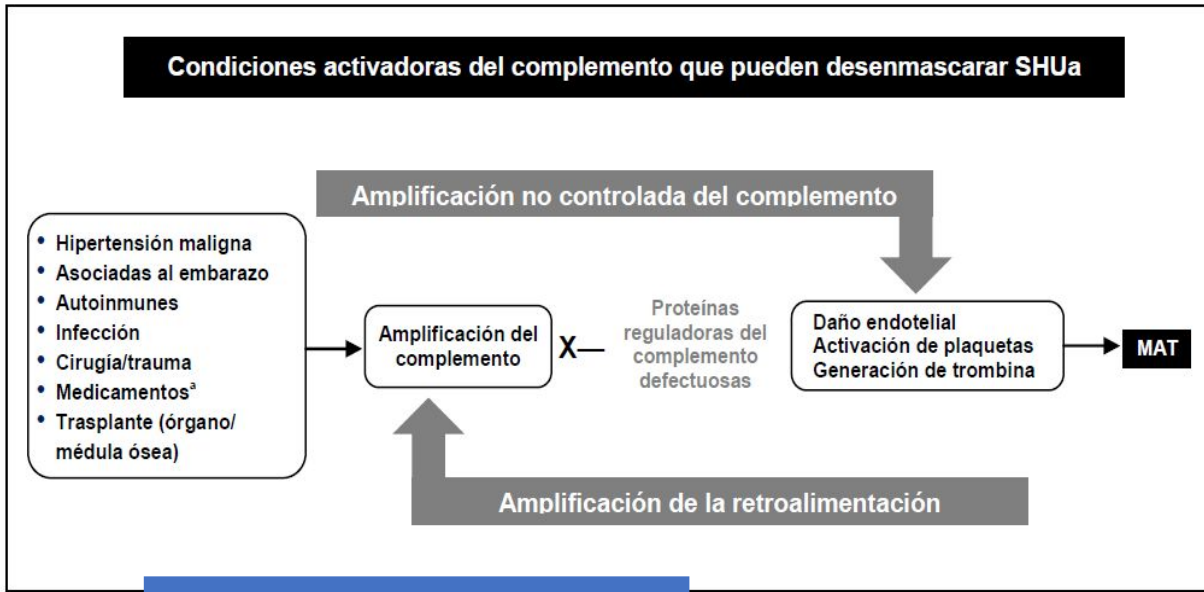
Clasificación de las Microangiopatías Trombóticas



Diagnóstico diferencial

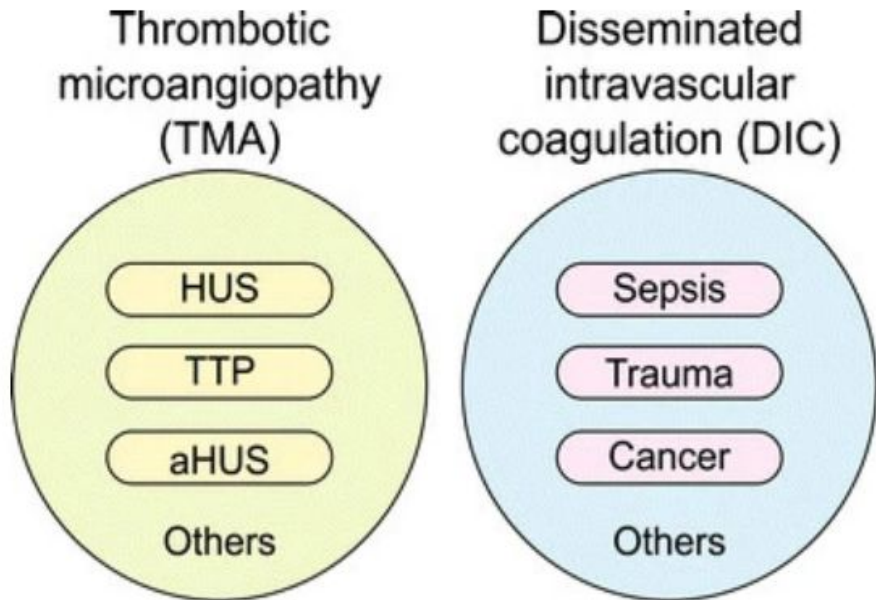


Condiciones activadoras del complemento para SHUa



- El SHUa es una MAT vinculada a la incapacidad para regular la ruta alterna del complemento.
- Este defecto establece la generación de un ciclo positivo de retroalimentación entre los componentes del complemento terminal C5a (una anafilatoxina) y C5b-9 (CAM complejo de ataque a la membrana), la activación/ lesión de las células endoteliales y la generación de trombina.
- En aproximadamente dos tercios de los casos, una condición activadora del complemento puede estar vinculada temporalmente al desenmascaramiento del SHUa en un individuo susceptible.
- Estas condiciones pueden por sí mismas causar un trastorno similar a una MAT.

Complemento, MAT y CID



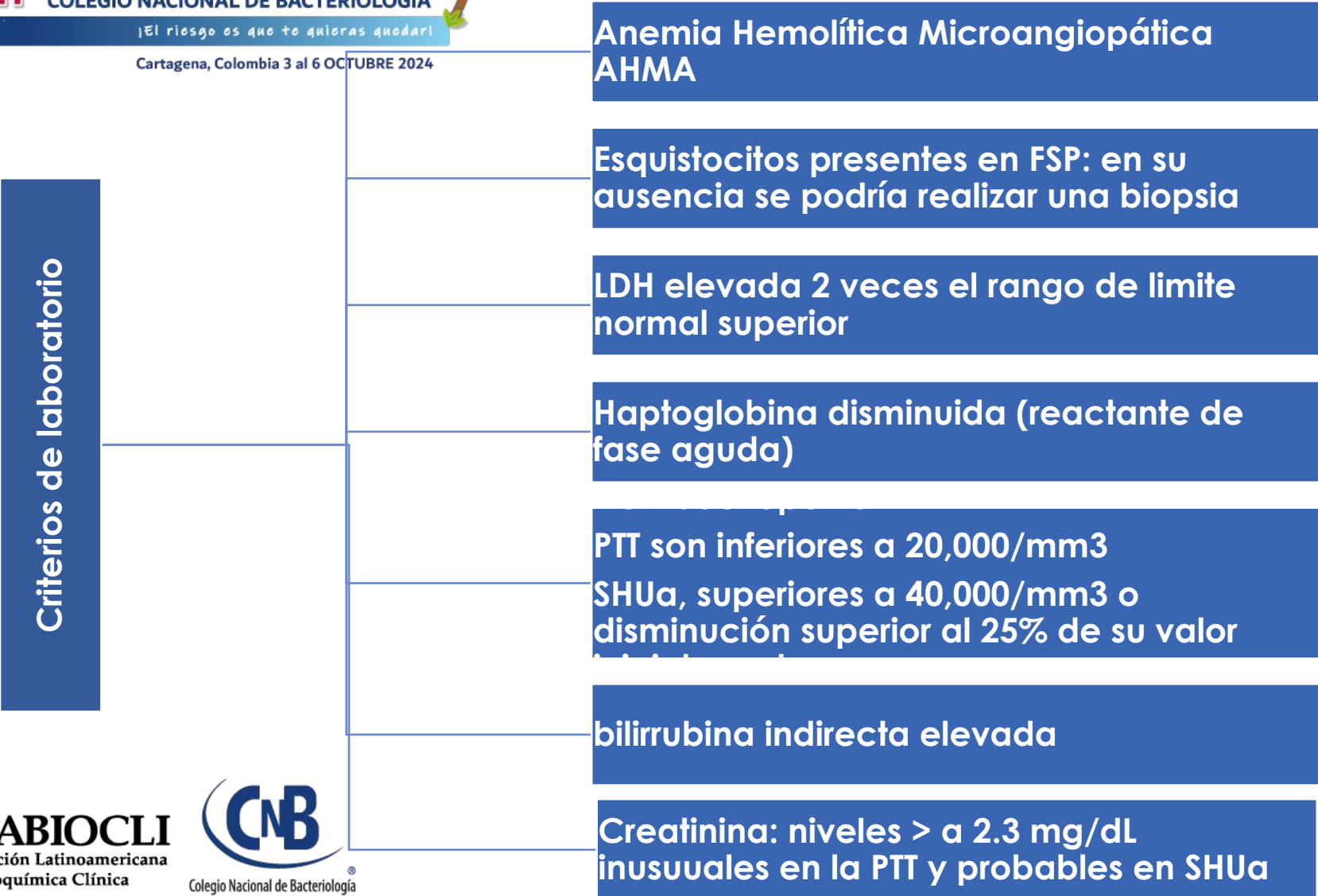
Variable	CID	MAT
Conteo de plaquetas	Disminuido	Disminuido
Fibrinógeno	Disminuido	Normal
Productos de la degradación del fibrinógeno (PDF)	Aumentados	Normales
Dímero D	Aumentado	Normal
Antitrombina	Disminuida	Normal
Esquistocitos	Presentes	Presentes
Haptoglobina	Normal	Disminuida
Tiempos de coagulación	Prolongados	Normales
Presión arterial	Disminuida	Aumentada

Tabla tomada de: Campistol J, et al. Nefrología. 2015;35(5):421-47 (10).

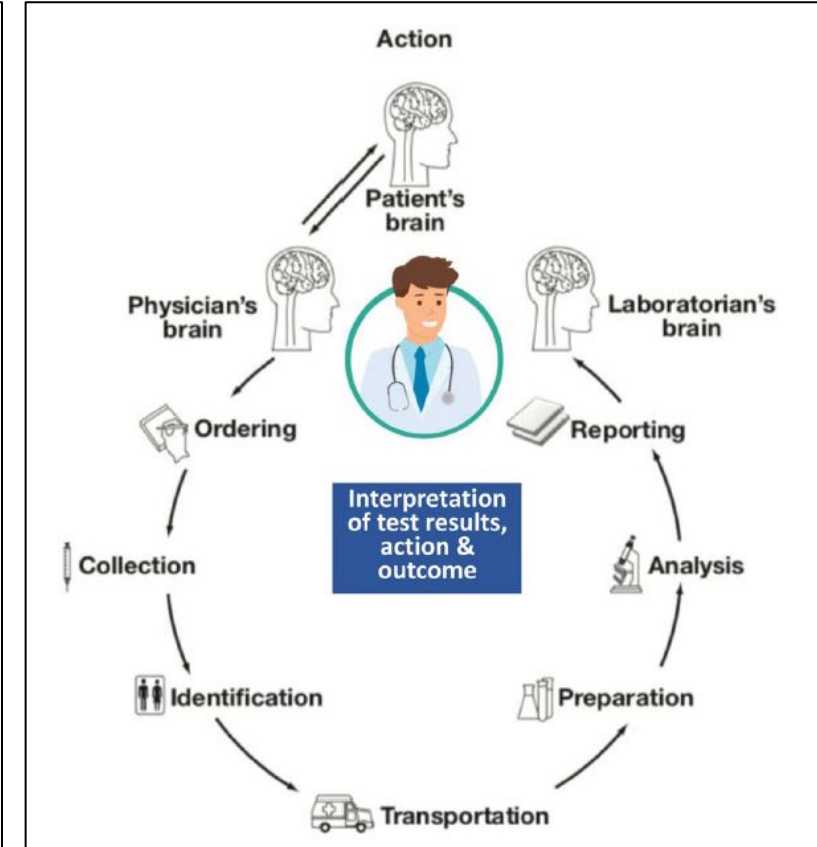
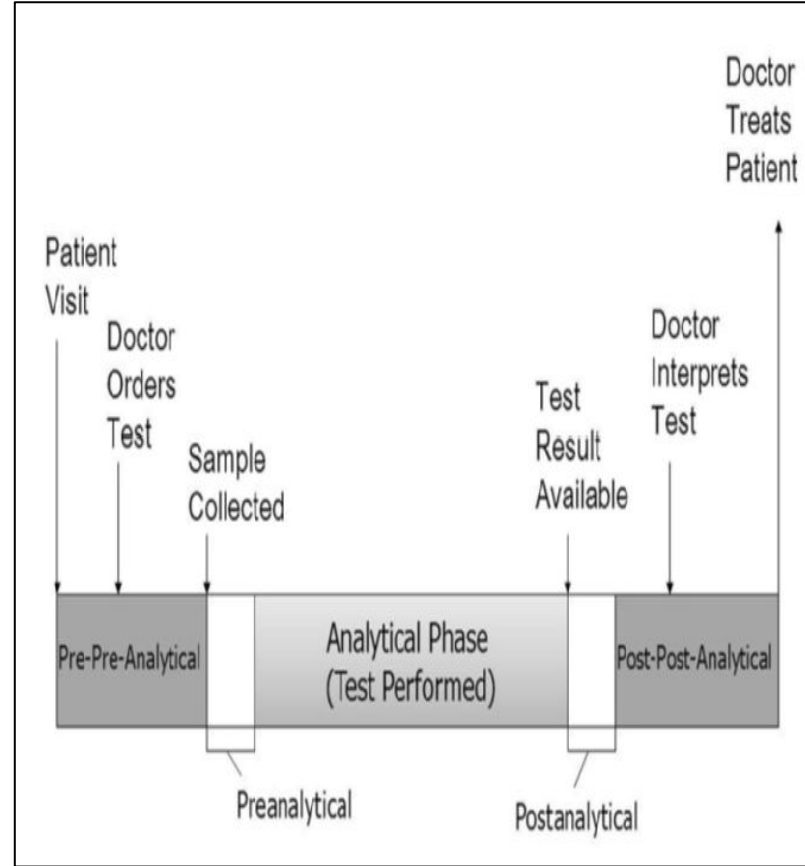
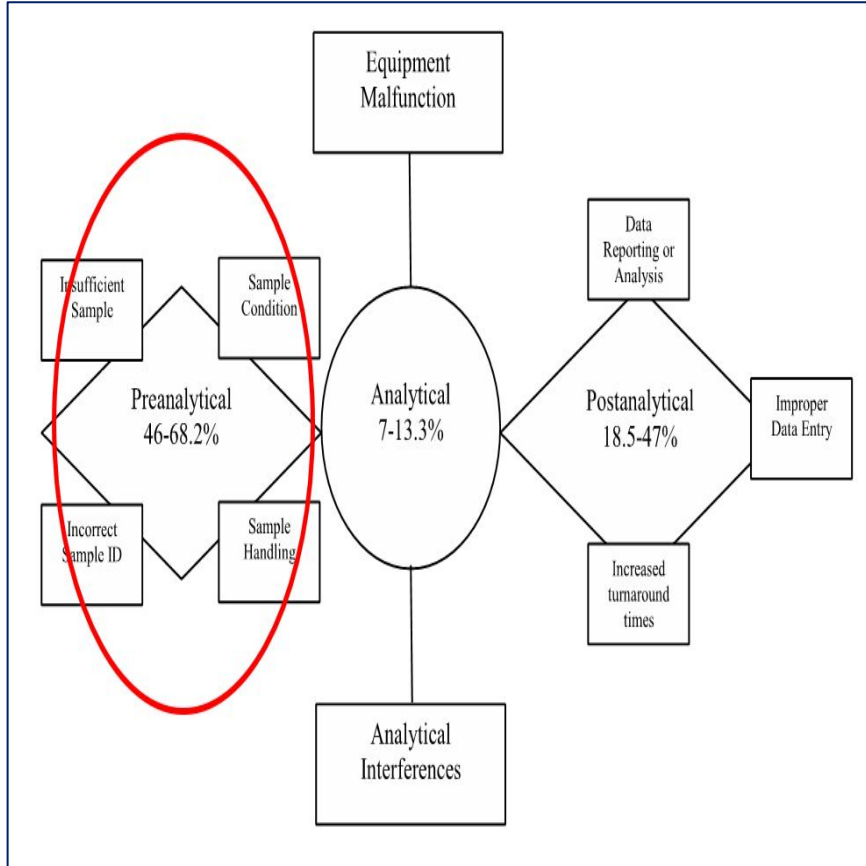
Los pacientes con coagulación intravascular diseminada (CID) y microangiopatías trombóticas (MAT) con frecuencia presentan activación del complemento y comparten las consecuencias clínicas de la trombocitopenia, la AHMA y la trombosis microvascular.



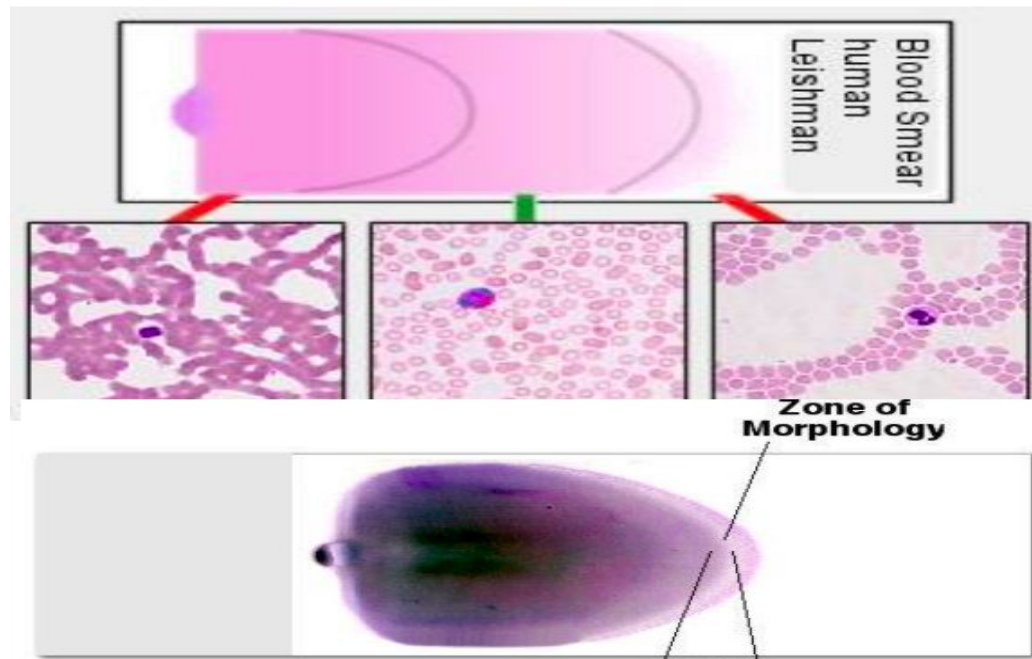
Como lograr un diagnóstico de una MAT específica



Garantía de calidad



Parámetros importantes en el Cuadro Hemático



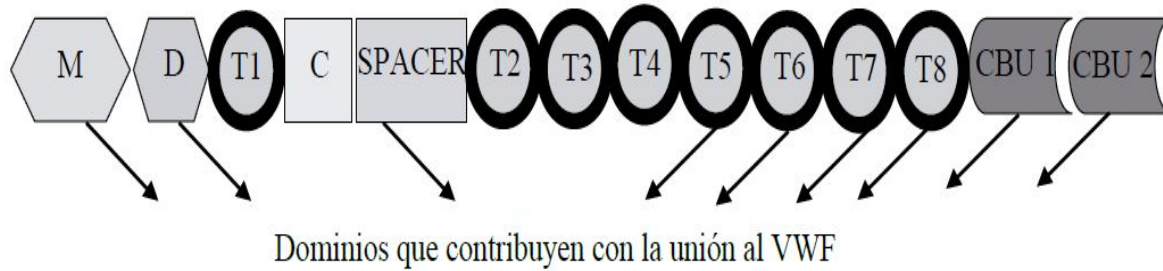
Lo que debemos saber del Adamts 13

Estructura y función

Medición por el Laboratorio



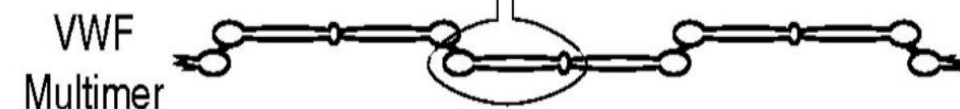
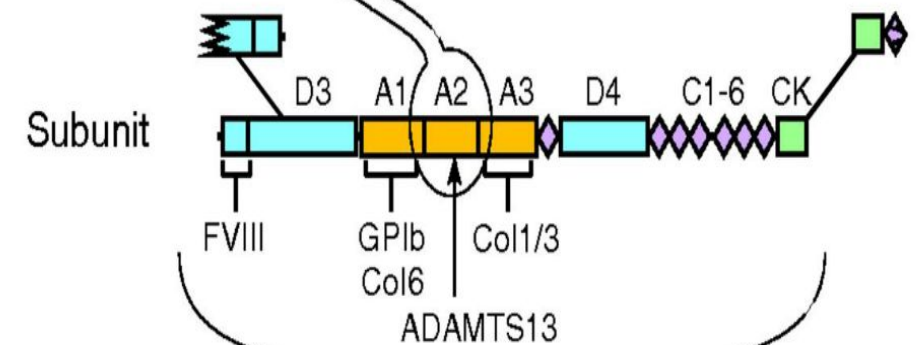
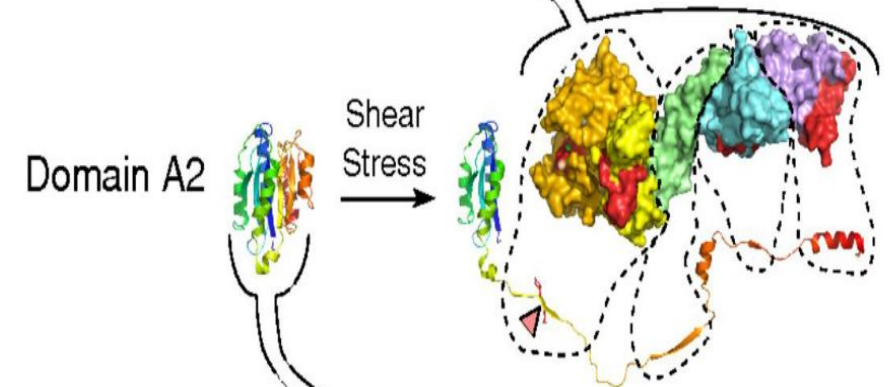
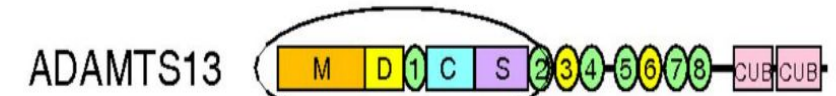
Estructura de Adamts-13



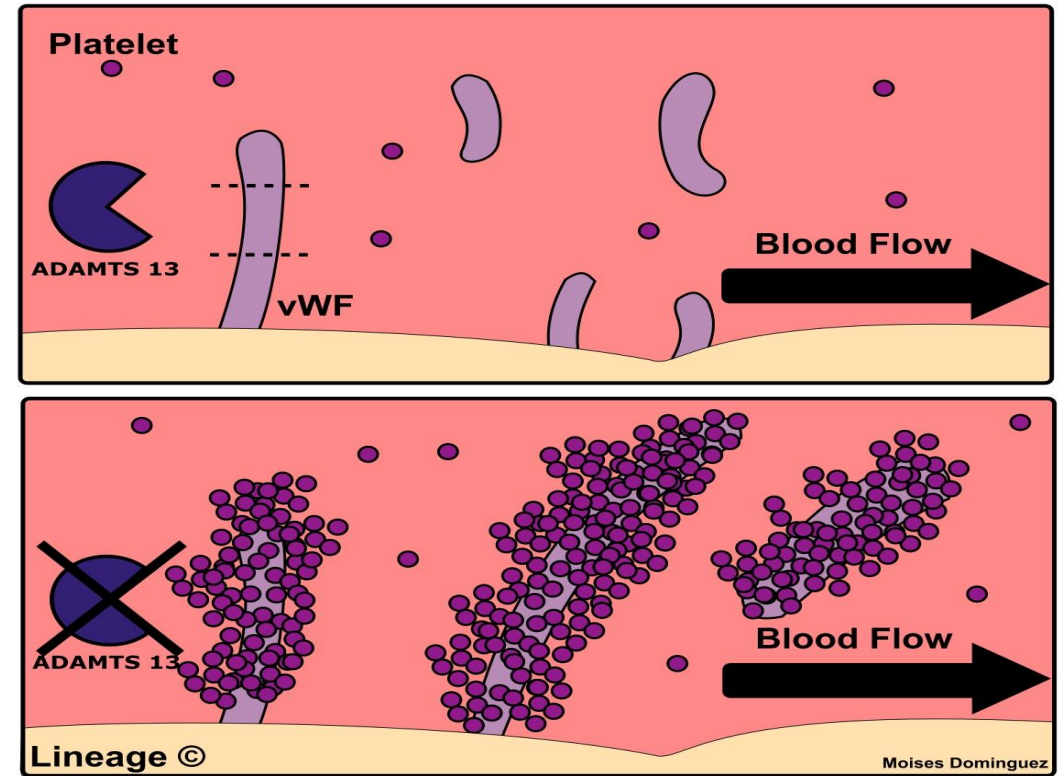
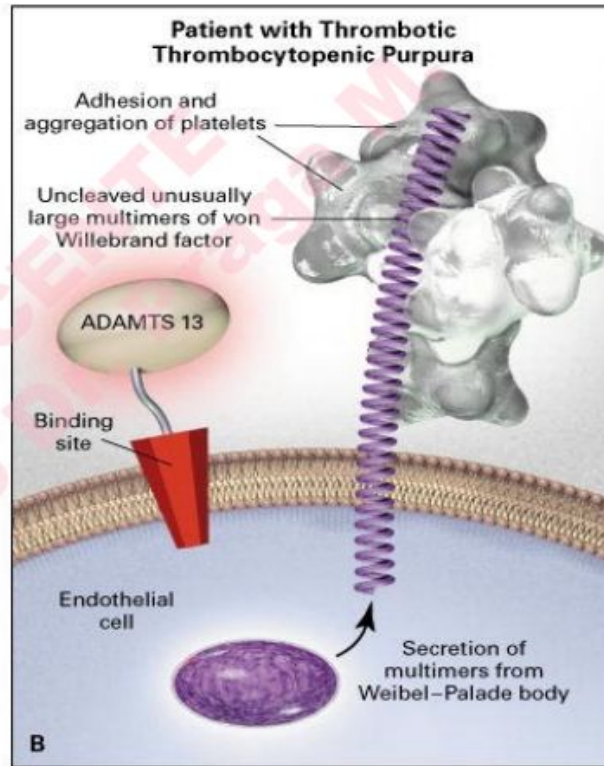
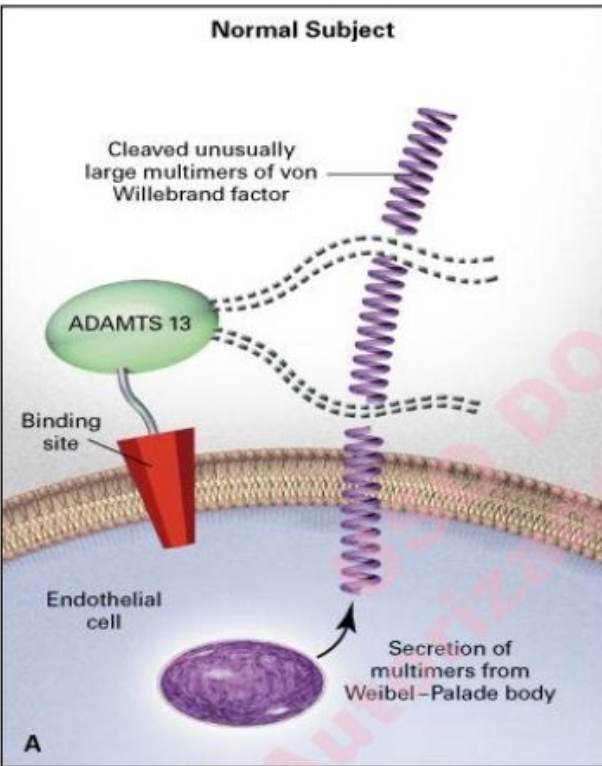
Dominios que contribuyen con la unión al VWF

La molécula esta formada por

- ✓ Un dominio de cisteína metaloproteasa (M)
- ✓ Un dominio símil-desintegrina (D)
- ✓ 8 repeticiones similares de trombospondina (T1-T8)
- ✓ Un dominio rico en cisteína (C)
- ✓ Un dominio espaciador (SPACER)
- ✓ Dos dominios CBU (CBU1 y CBU2)
- ✓ El epítipo primario reconocido por los Ac anti-ADAMTS-13 está ubicado en el D SPACER

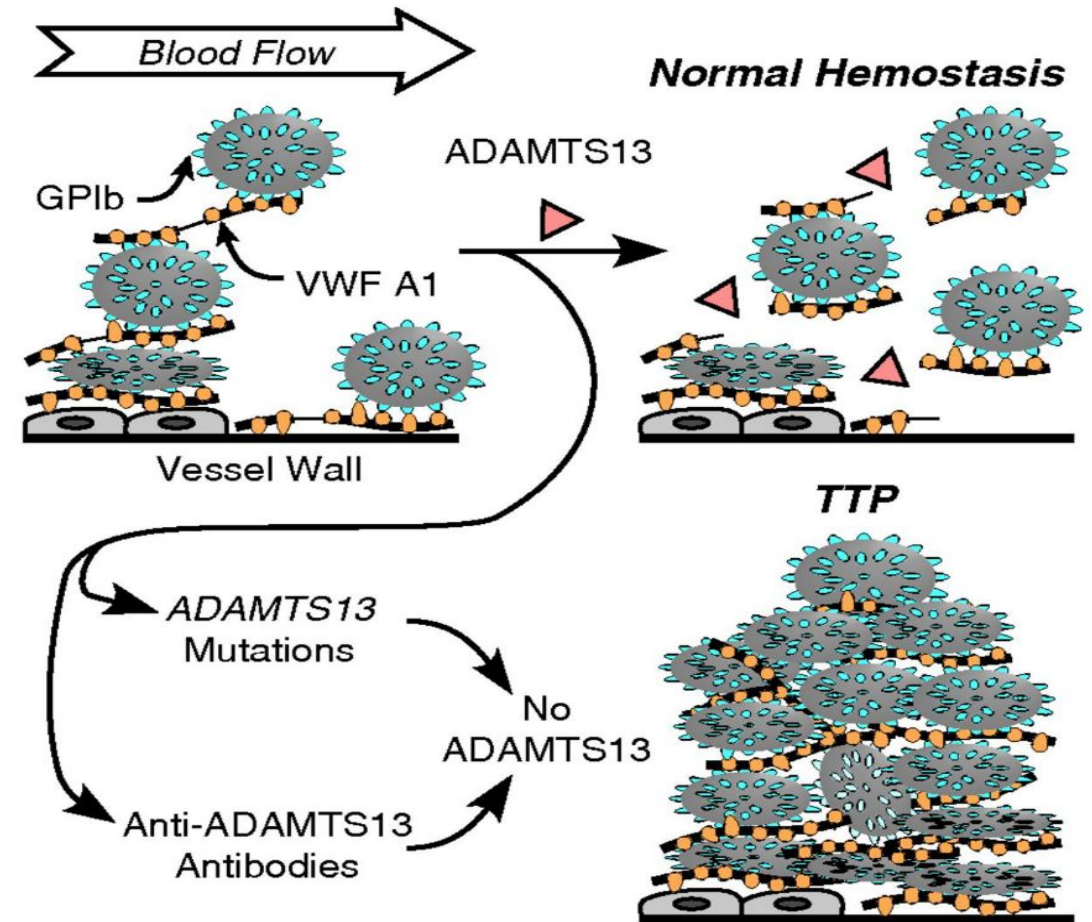


Sujetos normales y PTT



Adams 13

- ✓ **Función:** es clivar Multímeros de FvW que van desde dímeros simples a multímeros más complejos de 20 U.
- ✓ El sitio específico de clivaje está ubicado en la posición Tyr1605-Met1606 del dominio A2 del FvW.
- ✓ Si la actividad de ADAMTS-13 está disminuida, se puede presentar la PTT.
- ✓ Las características clínicas de PTT son similares a otras MAT la determinación de la actividad de ADAMTS-13 resulta una herramienta útil para ayudar al diagnóstico diferencial, seguimiento y tto.





Disponibilidad de pruebas para medición del ADAMTS 13

- De acuerdo lo que se quiera medir: se cuenta con pruebas para la actividad, el antígeno y la presencia de anticuerpos.

1. Primera generación (SDS gel de agarosa o SDS poliácridamida y luego su actividad residual medida a través de su unión al colágeno o mediante el ensayo de agregación plaquetaria inducida por ristocetina. Tiempo procesamiento de dos a tres días con un alto CV.
2. Enzimoimmunoanálisis comerciales (ELISA)
3. **FRETS** (*Fluorescence Resonance Energy Transfer Assay*).

4. HemosIL AcuStar ADAMTS13 activity assay quimiolumiscencia

- Para inhibidores
- **1. Anticuerpos anti-ADAMTS-13 totales: ELISA**
- **2. Anticuerpos con acción inhibitoria de la actividad de ADAMTS-13:**
- **Estudios genéticos de ADAMTS-13:** útiles para la confirmación del diagnóstico de PTT hereditaria.
- Existen más de 100 mutaciones descritas en el gen de ADAMTS-13, algunas en estado homocigota y otras en estado heterocigota, que están involucradas en la fisiopatología de la PTT.



Actividad funcional de Adamts-13

Recomendaciones del Laboratorio

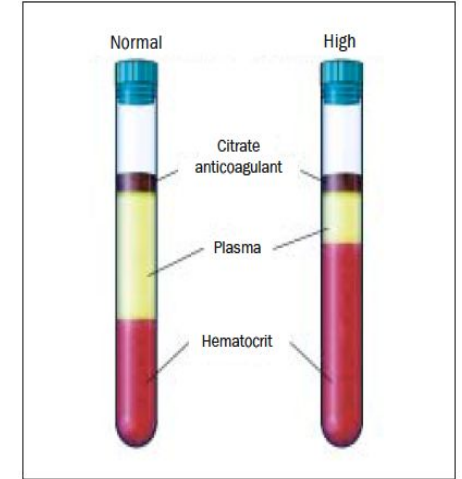
Método: quimioluminiscencia totalmente automatizada

Condiciones de la muestra:

- ✓ Guardar la proporción sangre-anticoagulante.
- ✓ Plasmas ictericos, hemolizados, lipémicos y plasmas con niveles de antígeno de von Willebrand hasta 200 UI/dL no presentan interferencia con esta metodología.
- ✓ Centrifugar hasta obtener un plasma pobre en plaquetas
- ✓ Volumen de muestra requerido 500UL
- ✓ **NO utilizar para toma de muestra EDTA** (tapa lila) como anticoagulante ya que este actúa como inhibidor irreversible de la actividad ADAMTS -13.

Importante: La TM se debe realizar antes de iniciar plasmaféresis para conocer el valor basal de la actividad de ADAMTS-13. En el seguimiento del paciente, informar fecha de la última plasmaféresis.

Recomendación: enviar resumen de historia clínica.



ERRORES PREANALÍTICOS INCORRECTO

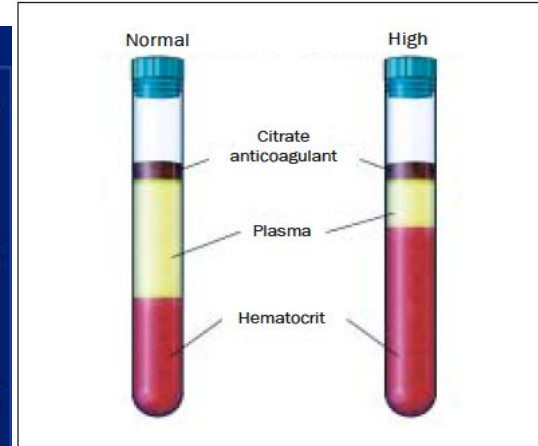
- Uso prolongado del torniquete
- Uso de guante como torniquete
- Múltiples punciones
- Uso de jeringa
- Orden de posición del tubo
- No guarde proporción sangre: anticoagulante
- Sin corrección a HTO >55%
- centrifugación no estandarizada y refrigerada
- Falta de estandarización en tiempos y en protocolos de almacenamiento

FASE PREANALÍTICA CORRECTO

- No más de un minuto
- Uso de banda ubicada mínimo a 5cm del sitio de la punción
- Una sola punción
- Sistema cerrado
- Siempre el azul primero
- Respete la proporción sangre: anticoagulante 9:1
- Con corrección al HTO
- centrifugación que garantice PPP (plasma pobre en plaquetas), < 10.000 plaquetas mm³ y a temperatura ambiente
- Procesos de transporte y almacenamiento estandarizados

ORDEN DE LLENADO TUBOS AL VACÍO

HEMOCULTIVOS		MEZCLADO 8-10 Veces
Coagulación		MEZCLADO 3-4 Veces
Química Clínica		MEZCLADO 5 Veces
Química-Hematología		MEZCLADO 8-10 Veces
Hematología-Banco		MEZCLADO 8-10 Veces
Glucosa-Alcohol-lactato		MEZCLADO 8-10 Veces



Gloria Ramos Ramos
2019

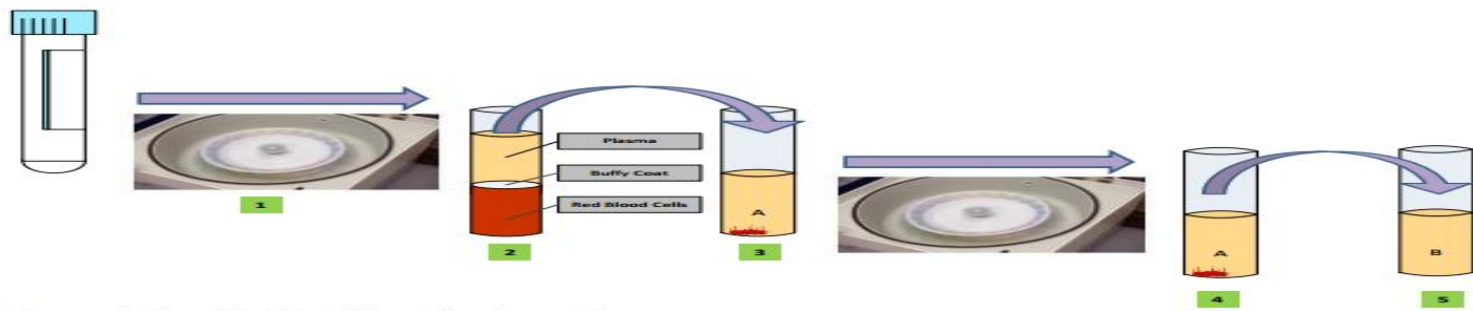


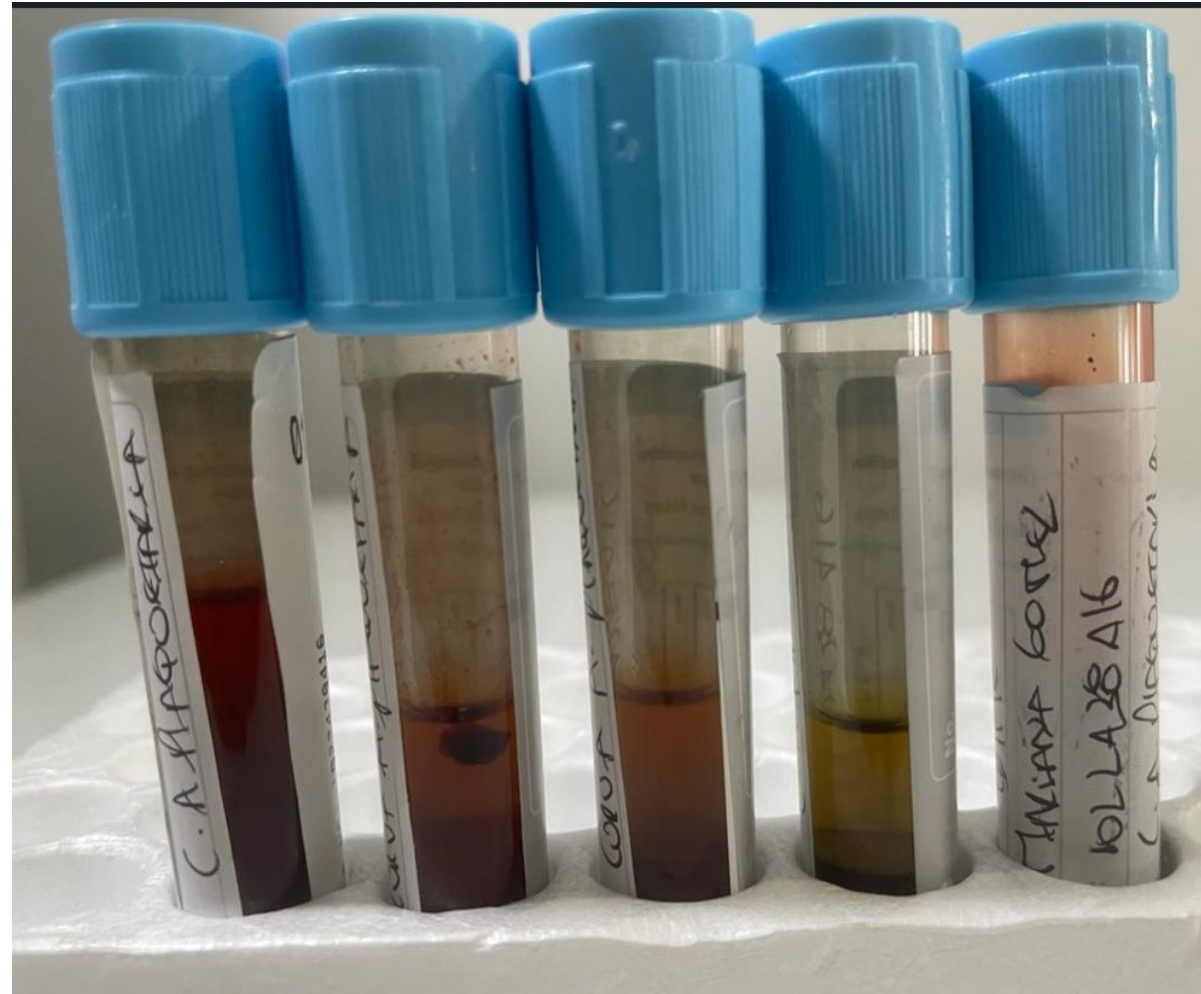
Figure 1. Double Centrifugation Procedure



COI
Confederación
de B

ongr

Muestras mal tomadas lo que no queremos recibir



Actividad funcional de Adamts-13

La principal utilidad de la medición de la actividad de ADAMTS-13 es el diagnóstico diferencial de las MATs.

Intervalos de Referencia:

Deficiencia: Menor o igual a 10 UI/dL se asocian a una PTT (valores menores de 5 UI/dL alta probabilidad de PTT).

- ✓ ADAMTS13 mayor de 10 UI/dL considerar microangiopatía primaria (SHUA) o secundaria a otras patologías de base como enfermedades autoinmunes o infecciosas.

Intervalos normales: 67 a 120%



Reporte de resultados

NOMBRE ESTUDIO	RESULTADO	UNIDADES	R.REFERENCIA/P.CORTE
COAGULACION			
FACTOR DE VON WILLEBRAND PROTEASA DE CLIVAJ			
FACTOR DE VON WILLEBRAND PROTEASA DE CLIVAJE	22.9	% ACTIVIDAD	VALOR DE REFERENCIA Deficiencia: Menor o igual a 10%** OBSERVACIONES * Porcentajes de actividad de ADAMTS13 menor al 5% son altamente indicativos de Púrpura Trombocitopénica Trombótica. ** Porcentaje de actividad de ADAMTS13 mayor de 10% sugieren considerar otras causas de microangiopatía primaria (SHUA) y secundaria (lupus eritematoso sistémico, el síndrome antifosfolípido, coagulación intravascular diseminada, preeclampsia-eclampsia, hipertensión maligna, esclerodermia, neoplasias, hipertensión arterial maligna, trasplante de progenitores hematopoyéticos, tras el consumo de fármacos -Quinina, Mitocina entre otros). Por lo anterior y si la sospecha clínica lo amerita se sugiere confirmar el hallazgo en una nueva muestra y continuar estudios complementarios si el médico tratante así lo considera.

Estudios complementarios

Anticuerpos anti-ADAMTS-13 totales

por ELISA, *western blotting* o inmunoprecipitación. Estos anticuerpos son principalmente de isotipo IgG, pero también se han descritos de isotipo IgM e IgA.

Anticuerpos con acción inhibitoria de la actividad de ADAMTS-13

Importante en el diagnóstico de la PTT autoinmune o adquirida. La capacidad inhibitoria del anticuerpo se expresa en UB.
IR: menor de 0,4 UB



Cartagena, Colombia 3 al 6 OCTUBRE 2024

Anticuerpos con acción inhibitoria de la actividad de ADAMTS-13

Los anticuerpos anti-ADAMTS-13 son principalmente del isotipo IgG subclase 4 y 1, hasta en un 20% IgA.

La presencia de IgA y/o IgG₁ en un episodio agudo de PTT se asoció con una mayor tasa de mortalidad y niveles elevados de IgG₄ los mas relacionados con un mayor riesgo de recaída.

El epítotope primario reconocido por los anticuerpos anti-ADAMTS-13 está ubicado en el dominio espaciador. Dos tercios de los pacientes tienen anticuerpos que también reaccionan con epítotope en otros dominios ADAMTS-13, lo que refleja la naturaleza policlonal de estos Ac en PTT.

El mapeo fino de epítotope en el dominio espaciador de ADAMTS-13 reveló que cinco residuos, Arg568 y Arg660 cargados positivamente, y Phe592, Tyr661 y Tyr665, constituían la superficie antigénica principal de la mayoría de los anticuerpos inhibidores de ADAMTS-13.



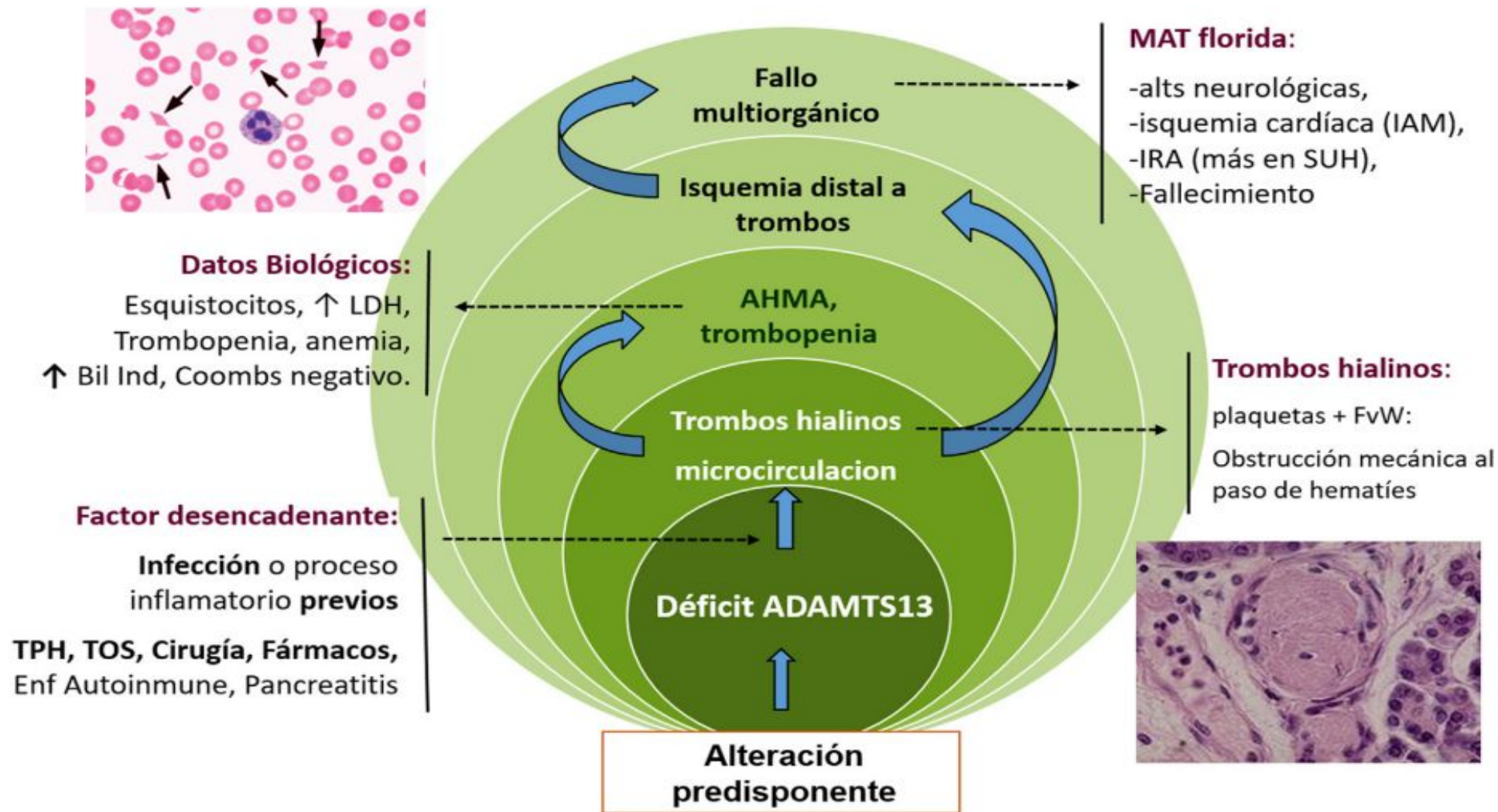


Figura 1. Fisiopatología de las microangiopatías trombóticas (MAT).

Códigos cups para MATS Para Colombia

CUPS	902071	FACTOR VON WILLEBRAND PROTEASA DE CLIVAJE
CUPS	906498	IDENTIFICACIÓN DE OTROS ANTICUERPOS (ESPECÍFICO) SEMIAUTOMATIZADO O AUTOMATIZADO





Mensajes para llevarnos a casa

- El laboratorio juega un papel importante como apoyo diagnóstico (hasta 80%) y seguimiento de las MAT .
- Las MAT se pueden documentar : clínicamente, por los signos de anemia hemolítica microangiopática (esquistocitos en frotis de sangre periférica, LDH elevada, bilirrubina indirecta elevada, y baja haptoglobina) junto con trombocitopenia y compromiso clínico de al menos un sistema orgánico y Patológicamente, con la inflamación de las células endoteliales.
- El SHUa puede diferenciarse de la PTT con base en la actividad de ADAMTS13, donde una disminución severa (<5%-10% del control) es característica de PTT. Es importante ordenar esta prueba a cualquier paciente que se presente con clínicos y de laboratorios de MAT antes de iniciar terapia plasmática.





VI CONGRESO LATINOAMERICANO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

II CONGRESO INTERNACIONAL DEL COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA

¡El riesgo es que te quieras quedar!

Cartagena, Colombia 3 al 6 OCTUBRE 2024



COLABIOCLI
Confederación Latinoamericana
de Bioquímica Clínica



Colegio Nacional de Bacteriología

www.congresocolabiocli.com

