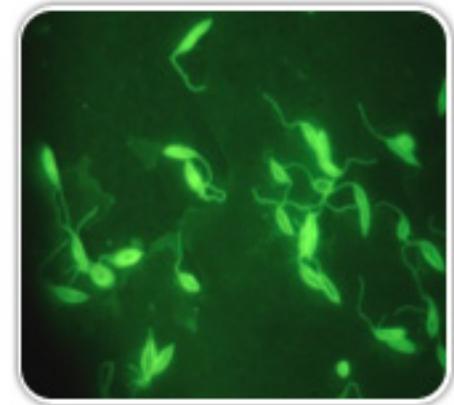
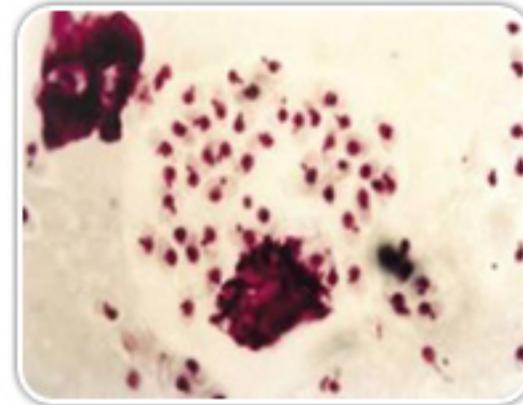
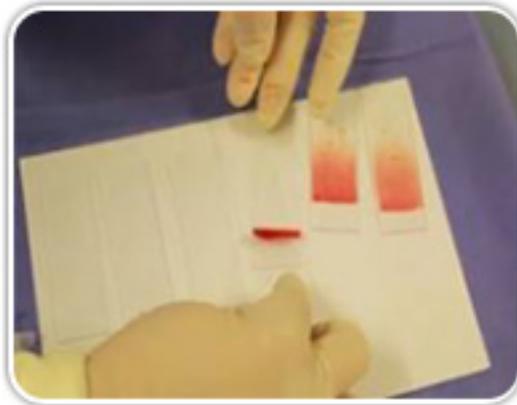


Leishmaniasis Visceral

Unidad 4 - Diagnóstico de laboratorio



☰ Resumen

📖 Unidad 4

📄 Clase 7

🎓 Introducción

📄 Diagnóstico de laboratorio

📄 Métodos directos

📄 Técnica: Punción aspirativa

📄 Materiales y procedimientos

📄 Métodos indirectos más utilizados

📄 Inmunocromatografía



Unidad 4

Clase 7 - Leishmaniasis visceral: Diagnóstico de laboratorio

Objetivo

Conocer los principales métodos y técnicas diagnósticas de la leishmaniasis visceral para apoyar el diagnóstico clínico y tratamiento.

Contenido

- ✎ Diagnóstico de laboratorio: importancia y métodos disponibles
- ✎ Exámenes específicos
 - ✎ Métodos directos: definición y técnicas disponibles
 - ✎ Métodos indirectos: definición y técnicas disponibles
- ✎ Exámenes inespecíficos y complementarios



Introducción

Como se vió en la unidad 3, muchas de las manifestaciones clínicas de la leishmaniasis visceral son inespecíficas y se pueden confundir con otras etiologías. El diagnóstico de laboratorio precoz permite iniciar el tratamiento específico y de soporte de forma oportuna y de este modo controlar la evolución de la enfermedad.

Vamos a conocerlos...



Introducción

- ✎ La leishmaniasis visceral es una enfermedad de compromiso sistémico que puede evolucionar hacia la gravedad y muerte si no es diagnosticada y tratada en forma temprana.
- ✎ Las manifestaciones clínicas no son patognomónicas de la leishmaniasis visceral.
- ✎ Hace un diagnóstico diferencial con varias enfermedades con compromiso del sistema hematopoyético (bazo, hígado y médula ósea).
- ✎ Los exámenes específicos para el diagnóstico de la leishmaniasis visceral permiten un diagnóstico precoz, lo que puede contribuir a una reducción de la letalidad.



Introducción

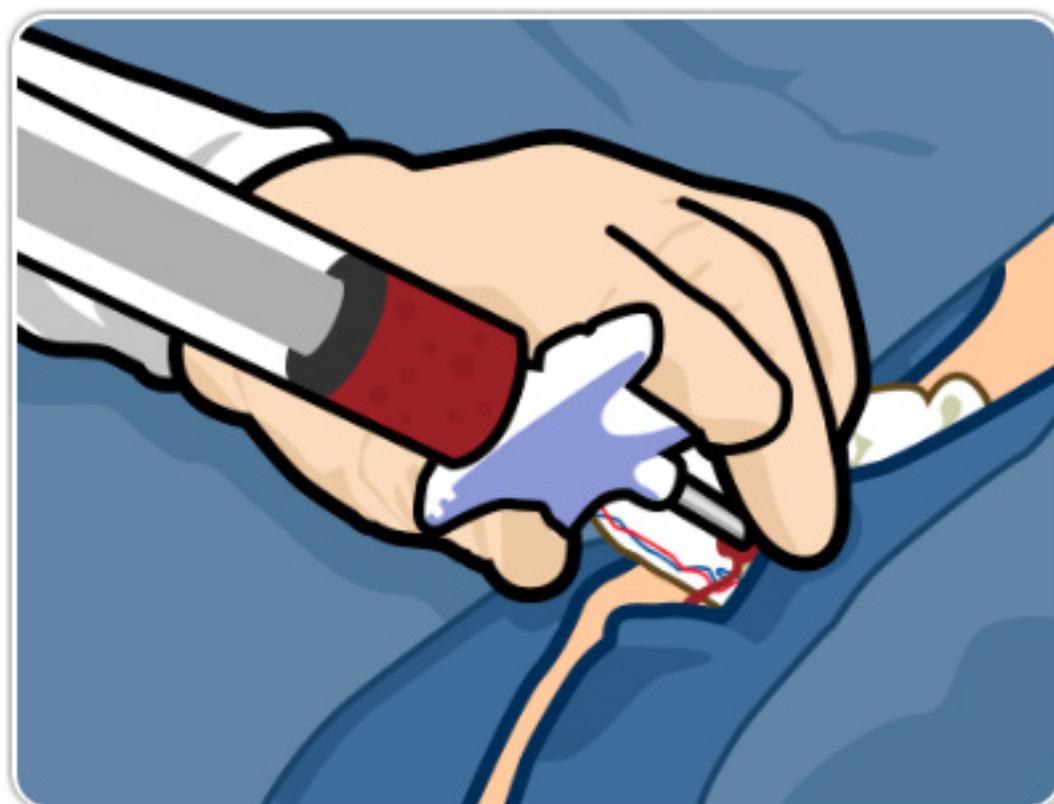


- Además de los exámenes específicos para el diagnóstico de la enfermedad, algunos exámenes inespecíficos son útiles y se deben solicitar. Dentro de estos, los más importantes son: hemograma y electroforesis de proteínas.
- Otros exámenes complementarios también se deben pedir, ya que ayudan en la conducta terapéutica, pues los medicamentos recomendados en el tratamiento de la leishmaniasis visceral presentan una elevada toxicidad. Además de esto, los exámenes complementarios ayudan en el seguimiento de los pacientes en tratamiento.

Diagnóstico de laboratorio

Exámenes específicos

- ✎ **Métodos diagnósticos disponibles:**
 - ✎ **Métodos directos:** examen parasitológico, cultivo y PCR
 - ✎ **Métodos indirectos:** Prueba Inmunocromatográfica (Prueba rápida), Inmunofluorescencia indirecta (IFI) y ELISA



Diagnóstico de laboratorio

A continuación vamos a conocer un poco más sobre los métodos directos para el diagnóstico de la leishmaniasis visceral.



Diagnóstico de laboratorio

Métodos directos:

Permiten la visualización del parásito en la muestra obtenida del paciente e incluyen:

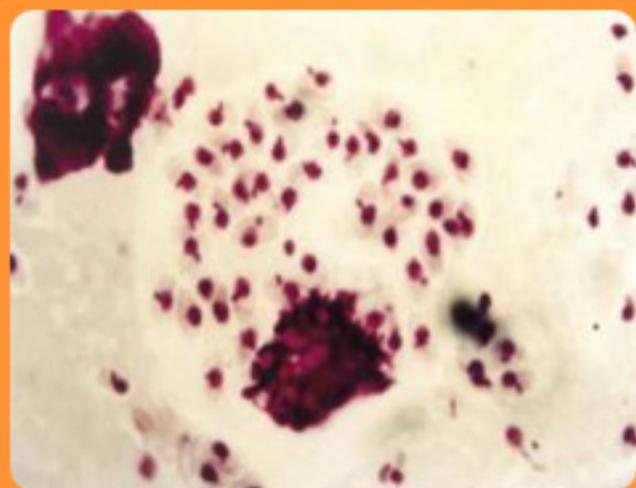


Imagen 1 La visualización de amastigotes en el frotis de material obtenido a partir de la punción aspirativa.

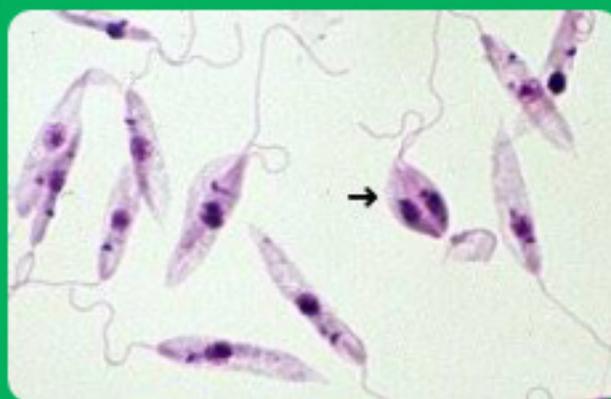


Imagen 2 La visualización de promastigotes en cultivos de material obtenido en la punción aspirativa

 Fuente

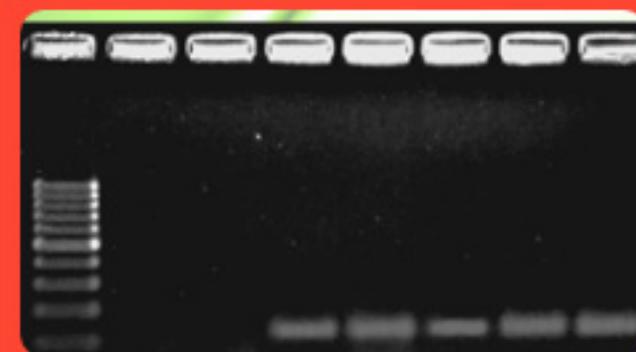


Imagen 3 La detección de material genético (ADN o ARN) del parásito por medio de técnicas como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

Image 1 - Fuente: Costa, JML, CPq GM-Fiocruz, Brasil

Image 2 - Fuente: Costa, JML, CPq GM-Fiocruz, Brasil

Image 3 - Fuente: Braz, LM, IMT-USP-SP, Brasil

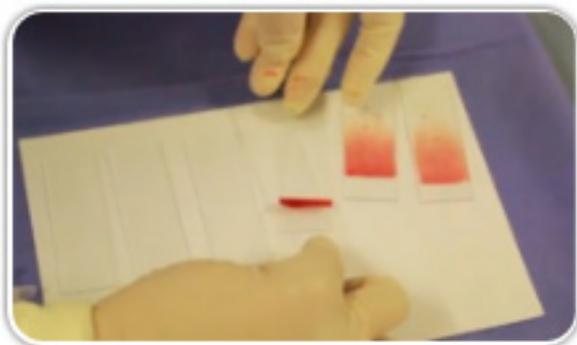
Diagnóstico de laboratorio

Métodos directos

La sensibilidad de los métodos +

La sensibilidad de los métodos directos es variable y depende:

- de la experiencia del analista y del tiempo usado en la lectura de la lámina
- de la técnica usada en la punción aspirativa y en el procesamiento de la muestra
- de la condición inmunológica del paciente



Tiempo de resultado del diagnóstico -



Diagnóstico de laboratorio

Métodos directos

La sensibilidad de los métodos

—

Tiempo de resultado del diagnóstico

+

Tiempo de resultado del diagnóstico

🔥 La realización del examen parasitológico directo es rápida y de amplio uso



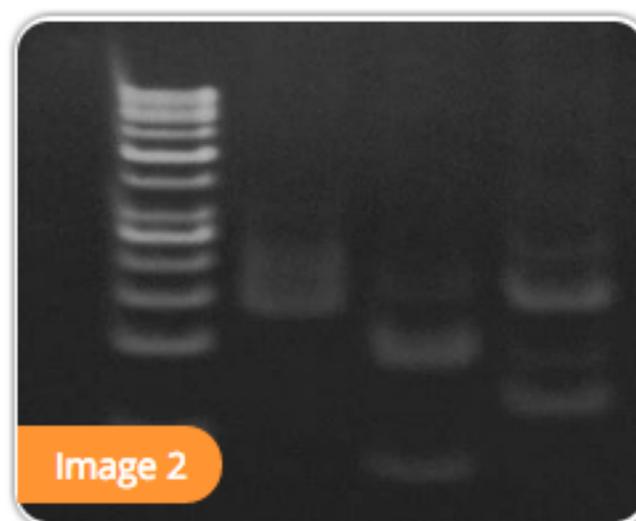
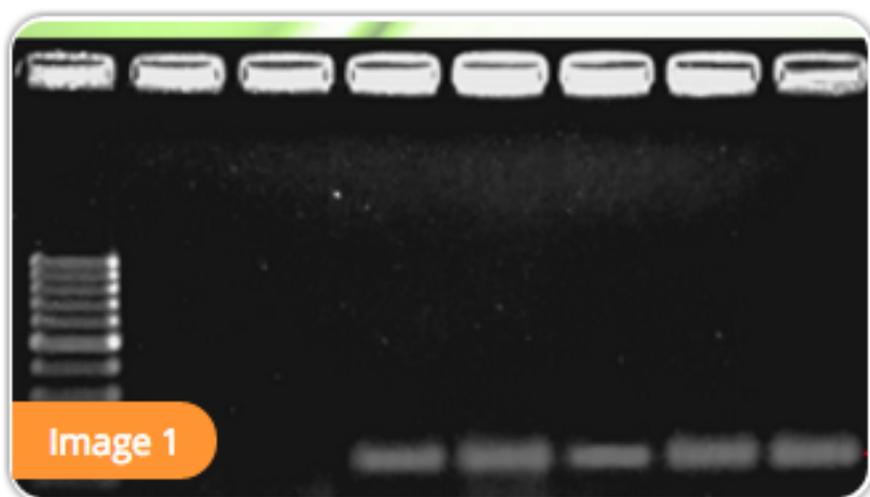
Diagnóstico de laboratorio

Métodos directos: Tiempo de resultado del diagnóstico

PCR



el PCR es rápido, con elevada sensibilidad y de acuerdo con los primers usados, presenta también elevada especificidad. Es más oneroso y requiere de una estructura de laboratorio más compleja.



Cultivo



Diagnóstico de laboratorio

Métodos directos: Tiempo de resultado del diagnóstico

PCR

-

Cultivo

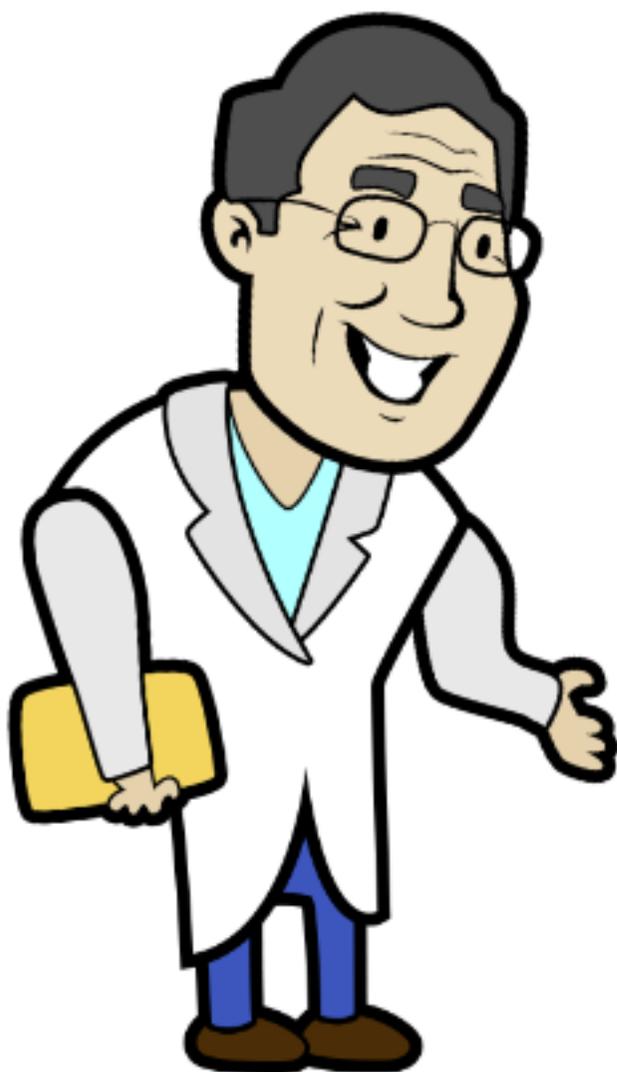
+

el cultivo requiere por lo menos 30 días para obtener el resultado



Diagnóstico de laboratorio

Métodos directos



Ahora vamos a conocer los cuidados y procedimientos para la realización de la punción aspirativa, técnica utilizada para obtener muestras y posteriormente procesar los exámenes parasitológicos directos, cultivo y PCR

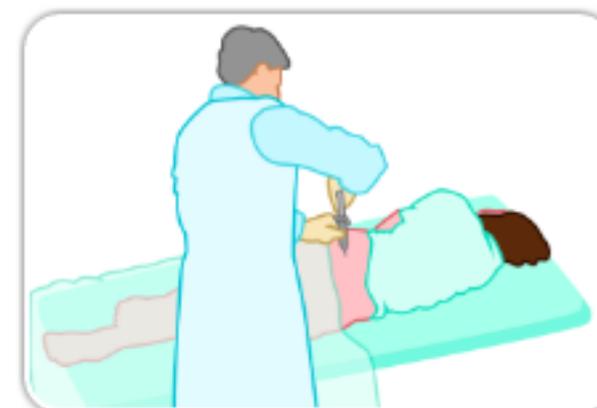
Diagnóstico de laboratorio

Métodos directos

Técnica: Punción aspirativa

- ❧ Procedimiento invasivo;
- ❧ Necesita de instalaciones adecuadas y apoyo para la realización de posibles transfusiones y cirugía, si hubiera complicaciones relacionadas al procedimiento;
- ❧ Requiere de habilidad y conocimiento técnico específico del médico;
- ❧ Sensibilidad variable, cuando se utiliza el examen parasitológico directo:
 - ❧ aspirado de bazo: 93% al 99%
 - ❧ aspirado de médula ósea: 53% al 86%
 - ❧ aspirado de ganglio linfático: 53% al 65%

▲ ATENCIÓN: El cultivo de *Leishmania* aumenta la sensibilidad del diagnóstico directo



Diagnóstico de laboratorio

Técnica: Punción aspirativa

Cuidados necesarios para mejorar la sensibilidad del examen parasitológico directo: +

- ✎ hacer una buena punción aspirativa
- ✎ utilizar láminas limpias y desengrasadas
- ✎ realizar el frotis de forma suave y homogénea
- ✎ secar a temperatura ambiente
- ✎ fijar y procesar la coloración adecuadamente
- ✎ hacer la lectura en el microscopio óptico
- ✎ la experiencia del técnico y el mayor tiempo de lectura aumentan la sensibilidad de la técnica



Cuidados necesarios para mejorar la sensibilidad del cultivo: —

Diagnóstico de laboratorio

Técnica: Punción aspirativa

Cuidados necesarios para mejorar la sensibilidad del examen parasitológico directo: —

Cuidados necesarios para mejorar la sensibilidad del cultivo: +

- ✎ hacer una buena punción aspirativa
- ✎ utilizar jeringa con solución de PBS con antibiótico
- ✎ en condiciones asépticas poner la muestra en medio de cultivo bifásico conocido como BAB (anteriormente llamado NNN) e incubar a una temperatura entre 24 y 26°C
- ✎ en el periodo de 30 días, revisarlo cada semana al microscopio invertido en busca de promastigotes.



Diagnóstico de laboratorio

- ✎ En conformidad a lo mencionado anteriormente, la muestra recolectada para la realización de los exámenes directos se puede obtener de tejidos como médula ósea, bazo y ganglios linfáticos.
- ✎ La punción aspirativa esplénica es el método que ofrece mayor sensibilidad para la demostración del parásito, sin embargo, presenta restricciones por la posibilidad de causar complicaciones graves, como sangrados.
- ✎ Por ser un procedimiento más seguro se recomienda la punción aspirativa de la médula ósea.
- ✎ A continuación presentamos los sitios anatómicos que se recomiendan para realizar la punción aspirativa.



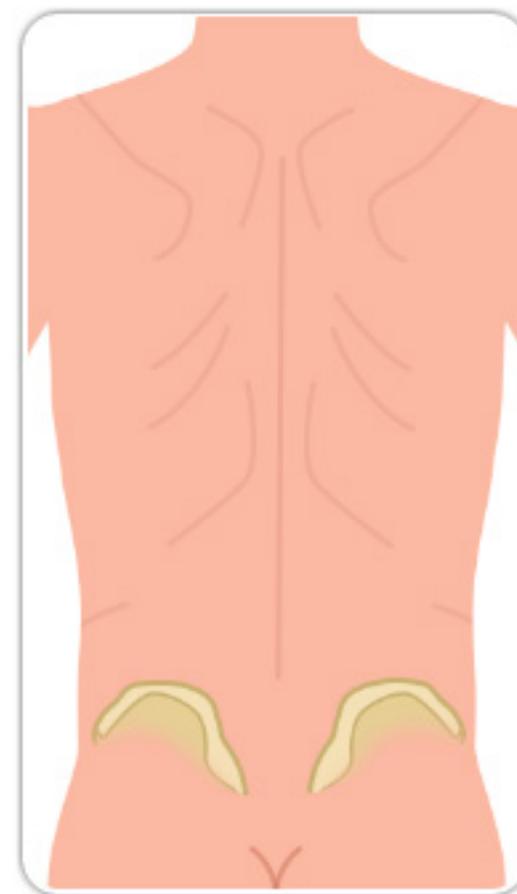
Diagnóstico de laboratorio

Punción aspirativa

Sítios anatómicos que se recomiendan para realizar la punción aspirativa

1ª opción – Punción de cresta ilíaca

- Se recomienda en los adultos y en los niños de cualquier edad, siendo satisfactoria incluso en lactantes.
- Preferiblemente realizar la punción en la cresta ilíaca posterior, en caso de que esto no sea posible, hacer la punción en la cresta ilíaca anterior.



Diagnóstico de laboratorio

Punción aspirativa

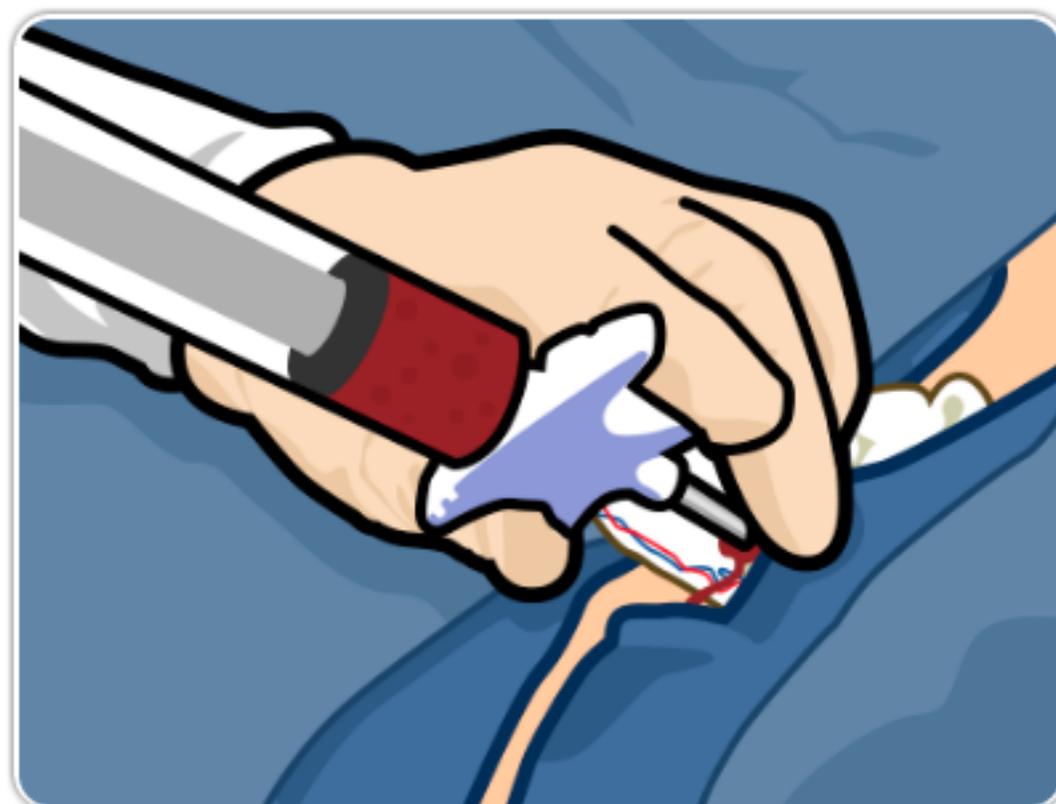
Sitios anatómicos que se recomiendan para realizar la punción aspirativa

2ª opción – Punción esternal

- ⌘ Aunque se puede hacer en todos los pacientes, se recomienda especialmente en los pacientes obesos o con inmovilidad.
- ⌘ Se debe usar aguja con protección de profundidad.

3ª opción – Punción tibial

- ⌘ Se recomienda en niños menores de 2 meses y ante la imposibilidad de la punción en la cresta ilíaca.



Diagnóstico de laboratorio



Ahora vamos a conocer los materiales utilizados y los procedimientos para la realización de la punción aspirativa.

Ahora vea el video de punción aspirativa y haga clic para ver en detalles la técnica de punción aspirativa



Diagnóstico de laboratorio

Usted acabó de ver los principales métodos directos para el diagnóstico de la leishmaniasis visceral. En los próximos slides usted va a conocer un poco más sobre los métodos indirectos más utilizados.



Diagnóstico de laboratorio

Métodos indirectos:

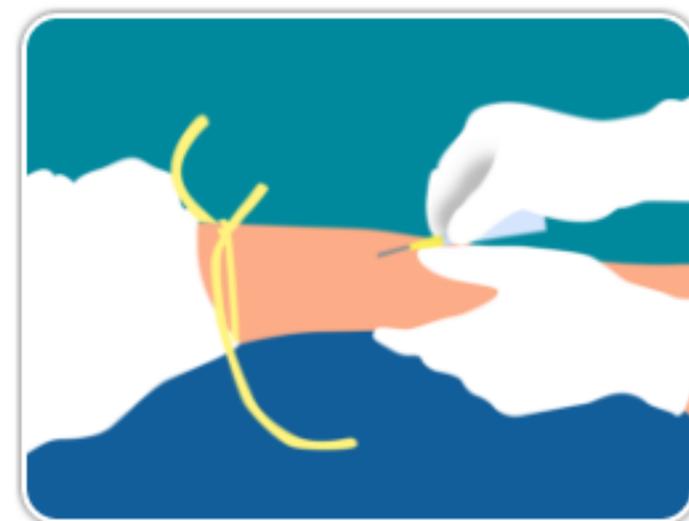
Se basan en la detección de anticuerpos específicos contra *Leishmania*.

Las técnicas disponibles son:

- ✎ inmunocromatografía - prueba rápida - rK 39
- ✎ inmunofluorescencia indirecta (IFI)
- ✎ ELISA (EIE)

Inmunocromatografía - (prueba rápida):

- ✎ detecta anticuerpos contra el antígeno rK39
- ✎ es fácil de realizar, rápida y económica
- ✎ recomendada para el diagnóstico precoz debiendo estar disponible en todos los niveles de atención
- ✎ sensibilidad y especificidad de las pruebas rápidas en las Américas, según estudio de la OMS (vea en el link que se muestra más abajo el estudio completo de validación de las pruebas rápidas):
 - ✎ sensibilidad: 84,7% (79,7 – 88,7%) y 92,0% (87,8 – 94,8%)
 - ✎ especificidad: 96,8% (93,9 – 98,4%) y 95,6% (92,2 – 97,5%)
 - ✎ la prueba rápida está validada para uso en suero



Diagnóstico de laboratorio

Métodos indirectos:

Inmunocromatografía - (prueba rápida):

La prueba rápida está indicada para los pacientes con sospecha clínica de leishmaniasis visceral, de cualquier edad, proveniente de área endémica y con los siguientes signos y síntomas:

- ❖ Fiebre de cualquier duración asociada a esplenomegalia
- ❖ Fiebre de cualquier duración asociada a hepatomegalia
- ❖ Fiebre de duración igual o superior a 14 días, asociada a cualquier citopenia (anemia, leucopenia, plaquetopenia o pancitopenia).

A continuación vea el video que demuestra los procedimientos y la realización de la prueba rápida



Diagnóstico de laboratorio

Métodos indirectos: Inmunocromatografía – (prueba rápida)

Interpretación de los resultados de una prueba rápida rK39.

- ❖ **Negativo:** cuando sólo la línea del control está presente
- ❖ **Positivo:** cuando la línea del control y la línea de prueba están presentes, la prueba es considerada reactiva aunque su línea sea levemente roja.
- ❖ **Inválido:** cuando hay ausencia de la línea de control



Diagnóstico de laboratorio

Métodos indirectos:

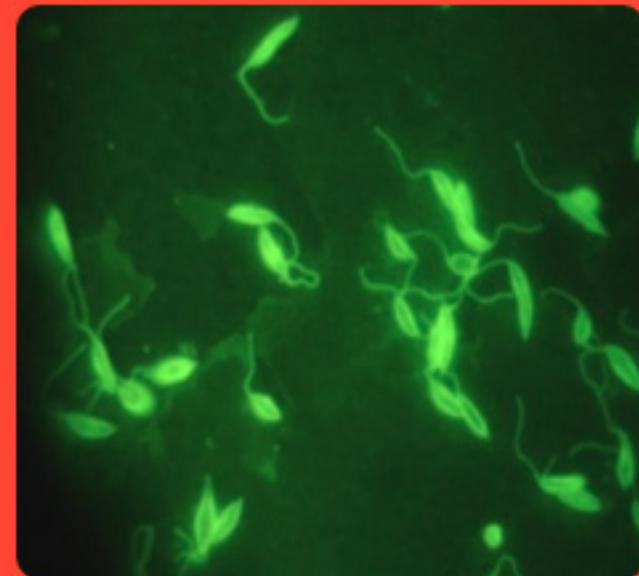
Inmunofluorescencia Indirecta (IFI):



es un procedimiento más oneroso, pues requiere una estructura de laboratorio y microscopio de fluorescencia



requiere de un profesional capacitado para el procesamiento del suero, preparación de las láminas y lectura en el microscopio



la muestra se considera reactiva para anticuerpos anti-*Leishmania* cuando se observan los parásitos con fluorescencia de color verde intenso

Diagnóstico de laboratorio

Métodos indirectos:

ELISA

- ✎ detecta anticuerpos específicos contra *Leishmania*
- ✎ menor especificidad
- ✎ la muestra se hace a partir de la recolección de sangre, de donde se separa el suero y el plasma, que se pueden usar en la detección de los anticuerpos
- ✎ procedimiento realizado en laboratorio y procesamiento hecho en espectrofotómetro a 492 nm.
- ✎ la muestra se considera positiva cuando la densidad óptica es igual o superior a la densidad óptica media de los sueros controles negativos más dos desviaciones estándares



Diagnóstico de laboratorio

Métodos directos

⚠ Atención

Los resultados de diagnóstico de laboratorio basado en la detección de anticuerpos (métodos indirectos), deben ser interpretados con cuidado en pacientes con inmadurez o deficiencia inmunológica, tales como: menores de un año, personas infectadas con VIH, adultos mayores, transplantados, comorbilidades y otros. Para estos casos, los métodos diagnósticos directos se deben realizar en forma prioritaria.

ATENCIÓN: La intradermorreacción de Montenegro no se utiliza en el diagnóstico de la leishmaniasis visceral, ya que esta es negativa durante la fase activa de la enfermedad.



Diagnóstico de laboratorio

Técnicas recomendadas para el diagnóstico de leishmaniasis visceral para áreas endémicas , según nivel de sistema de salud.

Nivel del sistema de salud	Técnicas de diagnóstico
Centro de Atención Primaria	Serológico: Antígeno rK39, detectado en prueba inmunocromatografica
Hospital Distrital o Regional (Atención secundaria)	Serológico: Antígeno rK39, detectado en prueba inmunocromatografica o prueba de aglutinación directa Parasitológico: Examen directo de aspiración en la médula ósea, los ganglios linfáticos o el bazo*
Hospital de Referencia (Atención terciaria)	Serología: Antígeno rK39, detectado en prueba inmunocromatografica, prueba de aglutinación directa, otra prueba serológica (por ejemplo: IFAT, ELISA) Parasitológico: Examen directo de las muestras de crema leucocitaria, médula ósea, ganglios linfáticos o bazo* Cultivo o PCR

 Fuente

Fuente: WHO TRS 949, 2010

(*) Aspiración del bazo se debe realizar únicamente por personal médico experimentado y si las instalaciones para el tratamiento de las complicaciones hemorrágicas se encuentran disponibles.

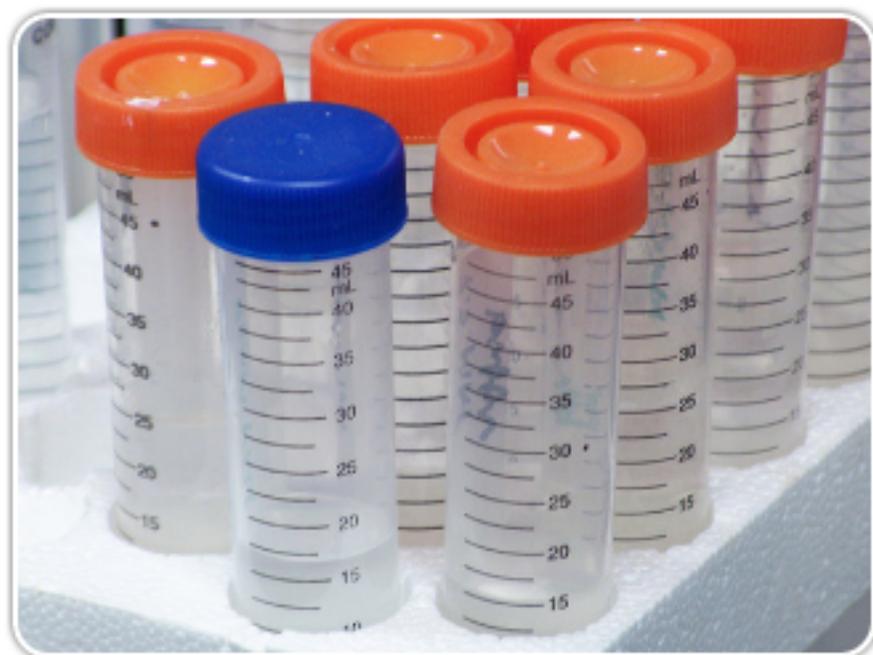
Diagnóstico de laboratorio

Exámenes diagnósticos Inespecíficos

- ✎ Algunos exámenes de laboratorio inespecíficos ayudan en el diagnóstico de la leishmaniasis visceral: hemograma con recuento de plaquetas y electroforesis de proteínas
 - ✎ En el hemograma puede haber pancitopenia o solamente citopenia de una determinada serie
 - ✎ En la electroforesis de proteínas se encuentra aumento de globulinas y disminución de albúminas, con inversión de la relación albumina/globulina



Diagnóstico de laboratorio



Exámenes diagnósticos complementarios

Además de los exámenes para diagnóstico específico e inespecíficos de la leishmaniasis visceral, exámenes adicionales se deben pedir con el objetivo de prevenir o detectar tempranamente complicaciones infecciosas y hemorrágicas, además de apoyar la conducta terapéutica específica. Ellos son:

- ✎ velocidad de hemosedimentación
- ✎ creatinina
- ✎ urea
- ✎ alanina aminotransferasa
- ✎ aspartato aminotransferasa
- ✎ actividades de protrombina
- ✎ fosfatasa alcalina
- ✎ bilirrubinas
- ✎ amilasa sérica
- ✎ Rx de tórax*
- ✎ examen de sedimento urinario y urocultivo*
- ✎ hemocultivo*

** En casos de sospechas de infección bacteriana asociada*

Diagnóstico de laboratorio

Métodos indirectos

⚠ Atención

En el transcurso del aumento de la coinfección *Leishmania*/VIH en los últimos años, se recomienda ofrecer la prueba de VIH a todo paciente con diagnóstico de leishmaniasis visceral, teniendo en cuenta que esta puede manifestarse como enfermedad oportunista en personas inmunodeprimidas.



Síntesis

Importancia del diagnóstico de laboratorio en la leishmaniasis visceral:

- ✎ Esa enfermedad causa compromiso sistémico, puede evolucionar para gravedad y muerte si no se diagnostica tempranamente; hace diagnóstico diferencial con varias enfermedades con compromiso del sistema hematopoyético; permite tratamiento específico tempranamente, con la finalidad de la reducción de la letalidad.

Métodos disponibles para el diagnóstico específico de la LV:

- ✎ Métodos directos: examen parasitológico directo, cultivo y PCR
- ✎ Métodos indirectos: Inmunocromatografía (prueba rápida), Inmunofluorescencia indirecta (IFI) y Elisa

El examen parasitológico se debe realizar siempre que sea posible, pues permite la visualización del parásito y la confirmación del diagnóstico.

La inmunocromatografía es un método de elevada sensibilidad y especificidad, que contribuye al diagnóstico precoz y a la reducción de la letalidad, por eso debe estar disponible incluso en las unidades de primer nivel de atención.



✓ Actividades de fijación

Ejercicios:

Realizadas las lecturas y el estudio de esta Unidad, le invitamos a levantar sus anotaciones y a poner en práctica el aprendizaje haciendo los ejercicios propuestos.

- ✎ Escogencia Múltiple
- ✎ Verdadero o Falso
- ✎ Correlación y Enumeración

Esperamos que esta Unidad haya sido importante para su conocimiento y sus prácticas... Y esperamos que pueda continuar profundizando en las temáticas de este campo de acción.

