



**MANLAB®**

Diagnóstico Bioquímico y Genómico

## La fase Pre-Analítica en el estudio de las Crioglobulinas

 11 min.



En el siguiente trabajo bioquímicos del Área de Proteínas del Laboratorio Génesis-Manlab nos muestran la importancia de la fase pre-analítica en el estudio de las crioglobulinas. Haciendo hincapié en la importancia de llevar adelante el protocolo de normas pre-establecidas para llegar a un diagnóstico acertado de la patología.



Sanz M. de las Nieves\*,  
Carreras Cáfora A.\*\*,  
Osatinsky R.\*\*\*

\*Bioquímica del área proteínas,

\*\*Bioquímica Residente (R3),

\*\*\*Jefa y Consultora del Área de Proteínas.



E-mail:

marianieves.sanz@genesis-manlab.com.ar



### Introducción

Las crioproteínas son proteínas séricas que precipitan de manera reversible a temperaturas menores a 37°C. Existen dos tipos de crioproteínas: criofibrinógeno y crioglobulinas. El criofibrinógeno (formado por complejos de fibrinógeno-fibrina)

precipita solamente en plasma. Las crioglobulinas son inmunoglobulinas (Igs) que precipitan tanto en suero como en plasma. La solubilidad de la proteína depende de la concentración, la hidrofobicidad, el tamaño y la carga superficial, temperatura de la solución, pH y fuerza iónica de la partícula; por ello cualquier alteración en alguno de estos factores podría favorecer la precipitación.

### CLASIFICACION DE CRIOGLOBULINAS

Tipo I: formado por Igs monoclonales asociadas a desórdenes inmunoproliferativos tales como: leucemia linfocítica crónica, linfoma no Hodgkin de células B, mieloma múltiple y macroglobulinemia de Waldenström (MW). Aunque también pueden ser asintomáticos. Precipitan dentro de las 24 hs. y pueden causar síntomas de hiperviscosidad y trombosis.

La MW es la principal patología causante de crioglobulinemia de Tipo I. El mecanismo esta basado en la alteración de células B que resulta en la acumulación de células linfoplasmocitarias (sobre todo en medula ósea) que secretan un anticuerpo monoclonal de tipo IgM. Esta IgM tiene la capacidad de precipitar con el frío produciendo la crioglobulinemia de tipo I.

Tipo MIXTA: formado por inmunocomplejos (IC) conteniendo Igs policlonales con (Tipo II) o sin (Tipo III) un componente monoclonal. Puede llevar hasta 7 días ver el precipitado. Enfermedades asociadas: artritis rematoidea, síndrome de Sjögren, lupus eritematoso sistémico, enfermedades

linfoproliferativas, enfermedades hepáticas, enfermedades renales, infecciones (hepatitis C), S.I.D.A., vasculitis de Kawasaki y urticaria por frío.

### PATOGENIA, DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO.

La crioglobulinemia es la consecuencia de precipitados intravasculares de Igs, que pueden producir (en forma reversible) obstrucción mecánica de pequeños vasos, desencadenando el fenómeno de Raynaud y vasculitis mediada por IC, particularmente en piel, nervios periféricos y riñones.

El cuadro clínico es muy heterogéneo y presenta diversas manifestaciones entre las que se encuentran: fiebre, sudoración nocturna y pérdida de peso. Astenia y adinamia en el contexto de un paciente con anemia (hemolítica o ferropénica), infecciones sinusales y bronquiales recurrentes dadas por la hipogammaglobulinemia, acrocianosis, úlceras, dolor muscular en extremidades, secundarios a una miopatía o neuropatía por IgM. El daño axonal se debe a la oclusión de los "vasa nervorum" por precipitación de crioglobulinas o vasculitis. A pesar de que la neuropatía puede ser detectada con un examen físico cuidadoso, los estudios neurofisiológicos son esenciales para el diagnóstico.

El sistema músculo esquelético también está frecuentemente afectado. Las artralgias comprometen principalmente rodillas, tobillos y articulaciones

interfalángicas y metacarpofalángicas.

El diagnóstico se basa en los hallazgos tanto clínicos y de laboratorio, donde se debe tener en cuenta la presencia de crioglobulinas circulantes, la disminución de los niveles de complemento (C4 y C1q) y la púrpura ortostática, característicos de la enfermedad.

Debe sospecharse presencia de crioglobulinas en pacientes con alteraciones multiorgánicas inexplicables en piel, hígado, riñones, nervios periféricos, etc. y frente a la tríada característica de la enfermedad: púrpura, debilidad y artralgias.

Los valores séricos de crioglobulinas no se correlacionan con la severidad ni el pronóstico de la enfermedad. A la hora de diagnosticar es importante diferenciar las crioglobulinas de tipo I de la crioglobulina de tipo mixta.

El objetivo de la terapia es no solo la

mejoría clínica de los pacientes sino limitar la precipitación in vivo de crioglobulinas y los efectos inflamatorios resultantes. La terapia debe individualizarse en cada caso, según la severidad de los síntomas clínicos y el trastorno subyacente. Es por eso que no se recomienda dar tratamiento a pacientes asintomáticos incluso en presencia de niveles altos de criocrito.

En pacientes con manifestaciones graves de crioglobulinemia (nefropatía, úlceras en piel, neuropatía sensitiva y motora, vasculitis generalizada, etc.) se puede recurrir a la plasmaféresis, donde se remueven las crioglobulinas de circulación evitando que éstas se depositen. Esta alternativa no se usa como monoterapia sino que es combinada con un tratamiento inmunosupresor.

Evaluar la respuesta al tratamiento, se realiza mediante el seguimiento clínico de los pacientes, ya que por la variabilidad intrínseca y la dificultad de la estimación de crioglobulinas, no se considera éste como

un método de seguimiento único en estas circunstancias.

## LABORATORIO

Las crioglobulinas son un hallazgo in vitro. Lamentablemente no hay un estándar internacional aceptado por lo que algunos laboratorios determinan el criocrito (% de crioglobulinas en suero total) y otros cuantifican el contenido de proteínas totales, ambas son medidas indirectas de la concentración de crioglobulinas ya que también detectan la presencia de otras proteínas, como albúmina y fibrinógeno.

No se recomienda hacer mediciones séricas de rutina, sino solo ante la sospecha clínica de una patología de base.

El test de crioglobulinas esta poco usado en la práctica clínica. La variable más importante en la estandarización del mismo es la toma de muestra inapropiada (la cual retrasa el diagnóstico de crioglobulinemia). La fuente de error más común son los falsos



**GEMATEC**  
equipamiento para medicina

## Radiometer Analizador de Inmunoensayo AQT90 FLEX

- Equipo Point of Care con calidad de resultados de laboratorio.
- Parámetros medidos: Troponina T, Troponina I, CKMB (masa), Mioglobina, NT-proBNP, PCR,  $\beta$ hCG y Dímero-D.
- Fácil manejo, software intuitivo, pantalla touch screen.
- Carga continua de muestras, tiempo promedio de resultado 10 minutos.
- Aspiración de muestra a partir de tubo cerrado (sange entera, plasma o suero)
- Completa Bioseguridad para el operador.



### QUÍMICA CLÍNICA



Representante en Argentina

### INMUNOLOGÍA



### MEDIO INTERNO



### HEMATOLOGÍA



Representante en Argentina

RADIOMETER

**mindray**

Int. Avalos 3651 - (1605), Munro - Buenos Aires - Argentina

Tel/Fax: (54 11) 4794-7575 / 7676 / 3184 - e-mail: info@gematec.com.ar - Web: www.gematec.com.ar

# Autoanalizadores para Química Clínica

# Miura



**I.S.E.**

Autoanalizadores  
de Química Clínica

Origen: Italia



Miura One

**2 AÑOS DE  
GARANTÍA**



Miura 200



Miura 500

I.S.E. S.R.L. es una empresa italiana con 30 años de experiencia en investigación y desarrollo en la producción de instrumental de laboratorio.

Autoanalizadores para química clínica e inmunturbidimetría en sus modelos Miura One, Miura 200 y Miura 500. Con lector de código de barras y posibilidad de incorporar módulo Ion Selectivo. Conexión a sistema de gestión.

**Consulte por Planes de Comodato**



## Sistema

Analizador automático de acceso aleatorio para química clínica, proteínas plasmáticas, drogas de abuso y electrolitos.  
Rendimiento Miura 500: 300 pruebas por hora hasta 500 con el módulo ISE a bordo.  
Rendimiento Miura 200: 240 pruebas por hora hasta 480 con el módulo ISE a bordo.  
Rendimiento Miura One: 120 pruebas por hora hasta 180 con el módulo ISE a bordo.



**BG ANALIZADORES S.A.**  
Aráoz 86 | C1414DPB | C.A.B.A. | Argentina  
Tel: 54-11 4856-2024/5734/2876 | Fax: 54-11 4856-5652  
bga@bganalizadores.com.ar | www.bganalizadores.com.ar

  
**BG Analizadores**

negativos por la pérdida del crio precipitado durante el transporte y almacenamiento.

#### TOMA DE MUESTRA

La sangre debe ser recolectada (sin anticoagulante), coagulada, centrifugada y transportada a 37°C. Cuando no se cuenta con una centrifuga precalentada, las células debe sedimentarse a 37°C y el suero debe ser separado a la misma temperatura sin centrifugarse. Elevadas concentraciones de crioglobulina de tipo I tienden a precipitar a temperaturas más altas. Cuanto mas elevada es la temperatura de precipitado mas severos son los síntomas.

La duración de la crio precipitación a 4°C varía de 9 a 12 días. Una mínima incubación de 3 días es requerida para evitar el subdiagnostico de crioglobulinemia mixta.

**PRUEBA POSITIVA:** muestra turbia o blanca a 4°C. Colocar la muestra a 37°C durante 2 hs, y se clarifica la muestra. Si mantiene el color blanquecino no son crioglobulinas, se debe a otra cosa.

**PRUEBA NEGATIVA:** muestra límpida o sin turbidez a 4°C. Esto quiere decir que no hay crioglobulinas presentes.

#### CAUSA DE FALSOS NEGATIVOS:

- La estufa no esta a 37°C.
- La muestra no se mantuvo a 37°C hasta que se formó el coágulo.
- La muestra se centrifuga a menos de 37°C.
- La muestra no es almacenada a 4°C por 72 hs.

#### CAUSA DE FALSOS POSITIVOS:

- Paciente lipémico, la lipemia no es un signo de crioglobulinemia.
- Uso de anticoagulantes en la toma de muestra.

Luego de la crioprecipitación se debe lavar la muestra con buffer (para evitar contaminación con proteínas normales del suero) y concentrarla para su análisis. Una vez concentrada, la muestra es centrifugada por última vez de donde se separa el precipitado y el sobrenadante en tubos diferentes. Se realiza una inmunofijación

del sobrenadante y una inmunofijación del precipitado con el objetivo de determinar el tipo de Igs que lo conforman.

#### A propósito de una muestra enviada al laboratorio

Ingresa al laboratorio una muestra de suero con pedido de proteinograma electroforético e inmunofijación. En el área de proteínas, se realiza el proteinograma a través de electroforesis capilar (EC) (Figura 1) y la inmunofijación con antisueros monoespecíficos IgG, IgA, IgM, Kappa y Lambda (Figura 2). La EC presentó un pico monoclonal que no se pudo tipificar a través de la IF ya que en éste no se observaba ninguna banda homogénea ni componente monoclonal.



Figura 1. Electroforesis capilar.

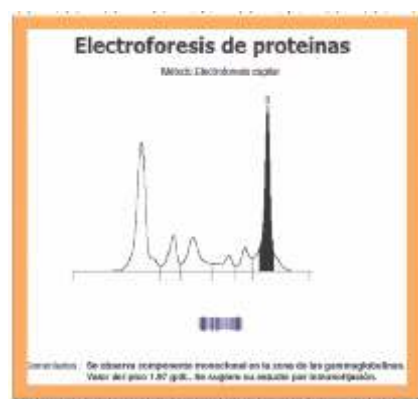


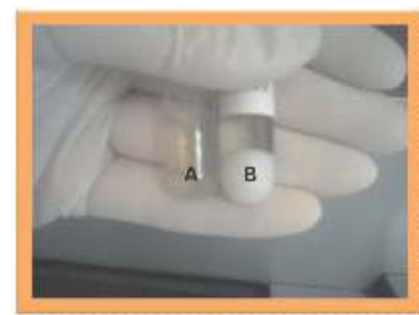
Figura 2. Inmunofijación de la misma. No se observa el CM, si restos de precipitación en la zona de siembra por extracción incorrecta.



Por los datos obtenidos, el área sugiere estudiar la presencia de crioglobulinas en suero. Se informa al colega la importancia de la fase pre-analítica para este estudio y se realiza una nueva extracción, cumpliendo esta vez con todos los requisitos que demanda un paciente con crioglobulinemia. La nueva muestra, una vez en el área de proteínas, fue enfriada a 4 °C durante 3 días y centrifugada (Figura 3).



Figura 3.



**cisma**  
LABORATORIOS S.A.

CENTRO DE INVESTIGACION, SALUD Y MEDIO AMBIENTE

Pringles 217 · Tel.: 54 - 2983 - 431408  
San Lorenzo 164 · Tel./Fax: 54 - 2983 - 420867 (central rotativo)  
Urgencias: 15645782 · (B7500IGD) Tres Arroyos · Buenos Aires  
Calle 66 N° 2654 CP.(7630) Necochea · Buenos Aires

cismalab@cismalab.com.ar  
www.cismalab.com.ar

Muestras de suero sometidas a una temperatura de 4 °C durante 3 días. Tubo A: Muestra obtenida por extracción realizada sin cumplir los pasos requeridos para el estudio. Las crioglobulinas no se ven a simple vista. Tubo B: Muestra obtenida por extracción realizada cumpliendo con todos los pasos que requiere el estudio. Se observa un precipitado color blanco correspondiente a las crioglobulinas.

Se separó el sobrenadante del precipitado en tubos distintos y se realizó una nueva IF donde se observaron dos componentes monoclonales, uno correspondiente a la cadena pesada IgG y el otro a la cadena liviana Lambda (Figura 4).



Figura 4. Inmunofijación del sobrenadante (izquierda) y del crioprecipitado (derecha) de la muestra con crioglobulinas de la misma paciente.



El análisis a través de EC no presentó diferencias con la curva de la muestra previamente enviada. La EC se realiza a temperatura de 37°, razón por la cual no hay modificación de la curva.

## CONCLUSIÓN

El objetivo del presente trabajo es demostrar la importancia de la fase pre-analítica en el estudio de las crioglobulinas. Observando la Fig.3, se aprecia a simple vista la diferencia de los resultados obtenidos que pueden llevar a un diagnóstico equivocado de la patología que pueda presentar un paciente si no se cumplen las normas establecidas para el estudio de las crioglobulinemias.

**MANLAB®**

Diagnóstico Bioquímico y Genómico



**MEG@NALIZAR**  
Tecnología y Calidad al servicio de la Salud

- El Megalaboratorio Institucional más completo de Cuyo
- Alta tecnología y bajos costos
- Participación constante en programas de control de calidad Externo

- Endocrinología
- Marcadores Tumorales
- Hematología
- Química Clínica
- Inmunoserología
- Virología
- Inmunología

