



aetel

LA REVISTA DEL TÉCNICO DE LABORATORIO  
número ochentayuno · 2012  
REVISTA CIENTÍFICO - TÉCNICA



25<sup>o</sup> CONGRESO  
NACIONAL

ÚLTIMOS AVANCES EN  
INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA



aetel

Asociación Española Técnicos de Laboratorio

Santiago de Compostela

PALACIO DE CONGRESOS Y EXPOSICIONES DE GALICIA

CURSO PREVIO (TSLDC - TSAP y C)

24, 25 y 26 de mayo de 2012

«Investigación Biomédica. Avances Tecnológicos»

Declarado de Interés Sanitario por  
el Ministerio de Sanidad,  
Servicios Sociales e Igualdad

2012

[www.aetel.es](http://www.aetel.es)

Asociación Española Técnicos de Laboratorio



2012

[www.aetel.es](http://www.aetel.es)

— **Comité Organizador** —

Presidente Juan Carlos Rodríguez Pérez  
Vicepresidente Marcos Vázquez Castro  
Secretaría Técnica Ignacio Pulido Letrán  
Secretaría de Finanzas Flora Sierra Puparelli  
Vocal Comité  
Organizador Local: Marta M.<sup>a</sup> Piñeiro Freire

— **Junta Directiva Aetel** —

Presidente Juan Carlos Rodríguez Pérez  
Vicepresidenta Patricia Fernández González  
Tesorera Flora Sierra Puparelli  
Secretaria Enriqueta Pumarejo Gómez  
Vicesecretario Ignacio Pulido Letrán  
Vocales Carmen Díaz González  
Ángel Estébanez Gallo  
José Herminio García Vela  
José María González Herbón  
María Jesús Lagarto Benito  
Marcos Vázquez Castro

— **Comité Científico** —

Presidenta M.<sup>a</sup> Jesús Lagarto Benito  
Coordinadores  
Científicos Carmen Casado Hernández  
M.<sup>a</sup> José de Cabo Morales  
Fernando Infantes Barbero  
Teresa Prieto Martín  
Ignacio Pulido Letrán  
Rosaura Reguera Andrés  
Javier Sánchez Hernández



# SUMARIO

- Anatomía Patológica .....	04
- Bioquímica .....	18
- Genética .....	62
- Hematología .....	75
- Inmunología .....	99
- Microbiología .....	105
- Miscelánea .....	137
- Índice de autores .....	145

DIRECTOR Juan Carlos Rodríguez Pérez

CONSEJO REDACCIÓN Patricia Fernández González, M.<sup>a</sup> Jesús Lagarto Benito.

REDACCIÓN AETEL C/ Cabeza de Vaca, 14 - Teléfono 923 252 395 - Fax 923 252 347

37004 Salamanca - salamanca@aetel.es

EDITA AETEL

DISEÑO e IMPRESIÓN Alfredo Gráficos - alfredograficos@alfredograficos.com

Dep. Legal M-10477-89 ISSN 1699-1036 Tirada 7.000 ejemplares

DISTRIBUCIÓN AETEL se distribuye a todos los socios, suscriptores, autoridades sanitarias y educativas

# ANATOMÍA PATOLÓGICA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 080

## MEJORA DE LA CALIDAD MEDIOAMBIENTAL DEL LABORATORIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA: PROTOCOLO PARA LA ELIMINACIÓN DEL XILOL

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: M<sup>o</sup> Dolores Cano Morillas/ Carmen Rodríguez Mora/ M<sup>a</sup> Luisa Rodríguez Doncel/ Lucas Miranda González

Centro de trabajo: HOSPITAL COMARCAL DE BAZA

Provincia: GRANADA

Correo electrónico del primer firmante: kanololy26@yahoo.es

### Introducción:

Hay muchos factores que determinan la toxicidad del Xileno. En el laboratorio de Anatomía Patológica el contacto es permanente, sobre todo para la aclaración de los tejidos.

### Objetivos:

Diversos productos químicos pueden ser utilizados como alternativas al xileno en los laboratorios de los hospitales siendo sus efectos menos adversos tanto para la salud humana como para el medio ambiente y algunos de ellos sin ningún efecto nocivo para la salud como es el aclaración con una solución jabonosa.

### Material y Métodos:

Material:

- Estufa
- Solución de jabón líquido limpia platos
- Agua destilada
- 4 cubetas contenedoras de 0,5 l

Protocolo para usar la solución de jabón líquido

- Disolver 40 mL de un jabón líquido limpia platos en 2 litros de agua destilada para hacer una solución al 2% v/v.
- Drenar las láminas antes de secarlas a 60° C durante 20 minutos.
- Poner las láminas en la solución de jabón líquido a 90° C durante 1 minuto.
- Transferirlas a otro contenedor con la solución de jabón líquido a 90° C durante 1 minuto.
- Lavar las láminas en agua potable a 90° C durante 30 segundos.
- Volverlas a lavar en agua potable a 90° C durante otros 30 segundos.
- Lavarlas en agua potable a 45° C durante 30 segundos.
- Ponga las láminas en agua destilada a temperatura ambiente y proceder a colorearlas en forma usual.

Procedimiento para aclarar los cortes antes del montaje:

- Los cortes que han sido desparafinados con la solución de jabón líquido se tiñen como de costumbre.
- Después de teñir se lavan con etanol o con 2-propanol y se escurren totalmente.
- Se secan en una estufa a 60° C durante 5 ó 10 minutos.
- Los cortes teñidos están listos para ser montados con un medio de montaje tipo DPX.

### Resultado:

No se encuentran diferencias microscópicas entre los cortes tratados con Xilol y los tratados mediante la solución de jabón líquido.

### Conclusión:

Esta solución jabonosa no es nada tóxica para la salud humana, no tiende a persistir en el medio ambiente como el Xilol, ni tiene efectos irritativos sobre el sistema nervioso y respiratorio

El procedimiento dura 3,5 4 minutos y cuesta 0.03 – cada 100 láminas cuando la solución de jabón líquido se renueva cada 200 láminas.

### Bibliografía:

Buesa RJ: Coverslipping without xylene. Biotechnic & Histochemistry, 2010; 85(4):269-270

Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (ATSDR). 2005.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 097

## CONTROLES DE CALIDAD DE LAS MUESTRAS DE ARN PARA LOS ESTUDIOS DE EXPRESIÓN GÉNICA Y SECUENCIACIÓN MASIVA DE ARN (RNAseq) EN LA LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: Capdevila Lózar Cristina, Martín Silvia, Aymerich Marta, Pinyol Magda, Colomer Dolores, Campo Elías

Centro de trabajo: Fundació Clínic

Provincia: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: ccapdevi@clinic.ub.es

### Resumen:

El Proyecto Internacional de Genoma del Cáncer (ICGC) de la leucemia linfática crónica (LLC) trata de estudiar qué genes influyen en el desarrollo de esta enfermedad y qué genes influyen en la eficacia o resistencia a tratamientos específicos mediante técnicas de secuenciación masiva del RNA y expresión génica del ARN de las células leucémicas. Debido a la complejidad y coste elevado de estas pruebas, dichas muestras de ARN deben cumplir unos requisitos de calidad muy estrictos.

### Objetivos:

Describir los controles de calidad de las muestras de ARN para los estudios genómicos de secuenciación de RNA (RNAseq) con la plataforma de ultrasecuenciación de Illumina y expresión génica con arrays de la plataforma de Affymetrix.

### Material y Métodos:

A partir de sangre periférica de pacientes con LLC se procede a la separación celular de las células de LLC, mediante el método inmunomagnético de Miltenyi Biotec®. La pureza de dicha subpoblación se determina mediante citometría de flujo. Posteriormente se realiza la extracción de ARN mediante el método manual con Trizol. Determinaremos la concentración (ng/µl) y la pureza del ARN (Ratio 260/280 y 260/230) con el espectrofotómetro Nanodrop® y analizaremos la integridad del ARN mediante el RIN, valor que nos proporciona el Bioanalyzer 2100 de Agilent. Las muestras se almacenan en congeladores de -80°C, etiquetadas y registradas con un sistema informatizado que asegura la trazabilidad de las muestras durante su procesamiento en el laboratorio (Bio-e-Bank®).

### Resultados:

Para las subpoblaciones de células de LLC se exige una pureza >95%. Las muestras de ARN deben tener una concentración superior a 20ng/µl, y ratios de 260/280 e<sup>1</sup>1.8 y 260/230 >2. La integridad del ARN debe superar un RIN mayor de 7. Con estos criterios estrictos de calidad se han remitido muestras de 95 pacientes para RNAseq y 160 para el análisis de la expresión génica mediante microarrays. Todas las muestras han resultado aptas para la realización de estos estudios.

### Conclusión:

Las muestras de ARN obtenidas que superan los criterios de calidad descritos son adecuadas para ser sometidas a estudios de secuenciación del RNA y expresión génica, técnicas que suponen gran complejidad técnica, elevado coste económico de material, equipamiento y personal técnico cualificado.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 098

## CONTROLES DE CALIDAD DE LAS MUESTRAS DE ADN PARA LOS ESTUDIOS DE SECUENCIACIÓN MASIVA EN LA LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: Martín Román Silvia, Capdevila Cristina, Aymerich Marta, Pinyol Magda, Colomer Dolores, Campo Elías

Centro de trabajo: Fundació Clínic

Provincia: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: simartin@clinic.ub.es

### Resumen:

El Proyecto Internacional de Genoma del Cáncer (ICGC) de la leucemia linfática crónica (LLC) trata de secuenciar de forma masiva el DNA de pacientes con LLC para detectar mutaciones en genes que pueden participar en el desarrollo de esta enfermedad o describir genes que pueden influir en la eficacia o resistencia a tratamientos específicos. Estas mutaciones se detectaran secuenciando el ADN de células sanas y de las leucémicas. Debido a la complejidad y coste elevado de estas pruebas, dichas muestras de ADN deben cumplir unos requisitos de calidad muy estrictos.

### Objetivos:

Describir los controles de calidad de las muestras de ADN para los estudios genómicos de secuenciación masiva WGS (Whole Genome Sequencing) y de secuenciación de exomas con la plataforma de ultrasecuenciación de Illumina®.

## Material y Métodos:

A partir de sangre periférica de pacientes con LLC se procede a la separación celular de los leucocitos no tumorales y células de LLC, mediante el método inmunomagnético Miltenyi Biotec®. La pureza de las subpoblaciones se determina mediante citometría de flujo. Posteriormente se realiza la extracción de ADN mediante el método de columna por afinidad de Qiagen®. Se determina la concentración (ng/μl) y la pureza del ADN (Ratio 260/280 y 260/230) con el espectrofotómetro Nanodrop®, así como la concentración de DNA de doble cadena con la incorporación del fluorocromo Picogreen y posterior lectura con un fluorímetro. La integridad del ADN se analiza mediante electroforesis en un gel de agarosa teñido con SYBR Green. Las muestras se almacenan en congeladores de -20°C etiquetadas y registradas con un sistema informatizado que asegura la trazabilidad de las muestras durante su procesamiento en el laboratorio (Bio-e-Bank®).

## Resultados:

Para las subpoblaciones de células de LLC y leucocitos sanos de la sangre periférica se exige una pureza >95%. Las muestras de ADN deben tener una concentración superior a 50ng/μl, y ratios de 260/280 e<sup>1.8</sup> y 260/230 >2. Tras electroforesis del ADN en gel de agarosa se debe observar una imagen sin signos de degradación (aparición de bandas de tamaño pequeño o smear). Con estos criterios estrictos de calidad se han enviado muestras de 4 pacientes a WGS y 125 para la secuenciación de su exoma. Todas las muestras han resultado aptas para la realización de estos estudios.

## Conclusión:

Las muestras de ADN obtenidas que superan los criterios de calidad descritos son adecuadas para ser sometidas a estudios de secuenciación génica masiva, que suponen gran complejidad técnica, elevado coste económico de material, equipamiento y personal técnico cualificado.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 101

## METILACION EN GLIOBLASTOMA MULTIFORME

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: Trinidad Yolanda Rico Rodríguez, María Elena Couso Folgueiras, Magali Piso Neira, Michel Herranz Carnero, María Elena Padín Iruegas, Jose Ramón Antúnez López.

Centro de trabajo: Complejo Hospitalario Universitario de Santiago

Provincia: A Coruña

Correo electrónico del primer firmante: yolarico72@yahoo.es

## Introducción:

El glioblastoma multiforme (GBM) es el tumor cerebral humano más frecuente y maligno, con un tiempo promedio de supervivencia de sólo 15 meses, a pesar de las modernas terapias. La identificación de nuevos marcadores moleculares de pronóstico de GBM está siendo un área de gran interés en neuro-oncología.

La O<sup>6</sup>-metilguanina-ADN Metiltransferasa (MGMT) es una proteína de reparación que elimina específicamente los grupos promutagénicos alquilo desde la posición O<sup>6</sup> de la guanina en el ADN. La expresión de MGMT disminuida debido a la metilación de islas CpG en la posición 5' del gen, permite la acumulación de ADN con alquilguanina: activador de la señalización de daño en el DNA y la muerte celular. Las diferencias en la metilación se asocian al aumento de la sensibilidad del glioblastoma a los agentes alquilantes.

## Objetivos:

El objetivo de este estudio fue analizar la presencia o ausencia de metilación en el promotor del gen MGMT, en los pacientes con GBM, para determinar si las tasas de supervivencia de los pacientes son diferentes en las personas con o sin metilación en dicho promotor.

## Material y Métodos:

Se estudió una cohorte de 33 pacientes. Después de la cirugía, 22 fueron tratados con radioterapia (RT) y Temozolamida (TMZ), y 11 sólo con RT. Todas las muestras fueron analizadas (a ciegas) para el estado de metilación del promotor MGMT.

Para el estudio de la Metilación, se realizó la prueba de MSP (PCR Específica de Metilación). Esta técnica consiste en tratar el ADN extraído (congelación o parafina) con Bisulfito Sódico que modifica las Citosinas del ADN si NO están metiladas. Una vez modificado el ADN, se realizan dos PCRs para cada muestra con diferentes primers de secuencia metilada y de secuencia NO metilada. Se resuelve en geles de agarosa al 2% utilizando como controles cerebro normal, ADN in vitro metilado y Agua. El positivo de la PCR se utiliza como resultado de presencia o ausencia de Metilación.

## Resultados:

La frecuencia de metilación de dicho promotor fue del 47,5%. La mediana de supervivencia fue mayor en el grupo de terapia combinada entre las personas con MGMT metilado.

## Conclusiones:

Estos datos indican que la metilación de MGMT podría ser un parámetro significativo en el pronóstico de los glioblastomas tratados con quimio-radioterapia. En el GBM, el estado de metilación del gen MGMT se debe utilizar en las decisiones clínicas para la gestión de los pacientes.

## Referencias:

Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, Hamou MF, Tribolet N, Weller M, et al. N Engl J Med. 2005 Mar 10;352(10):997-1003.

Hegi ME, Liu L, Herman JG, Stupp R, Wick W, Weller M, Mehta MP, Gilbert MR. J Clin Oncol. 2008 Sep 1;26(25):4189-99.

Etcheverry A, Aubry M, de Tayrac M, Vauleon E, Boniface R, Guenot F, et al. BMC Genomics. 2010 Dec 14;11:701.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 118

## PIROSECUENCIACIÓN: CONTROL DE CALIDAD DE LOS PROCESOS IMPLICADOS.

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: Sánchez Baeza, E; Veas Pérez de Tudela López, B; Parra Montoya, A; Martínez Marín, R; Ezcamez Martínez, T; Martínez Barba, E; Júdez Gutierrez, J; Bermejo López, J.

Centro de trabajo: Biobanc-Mur (Nodo Arrixaca)/Servicio Anatomía Patológica H.G.U. Virgen de la Arrixaca

Provincia: Murcia

Correo electrónico del primer firmante: encarnacion.sanchez19@carm.es

## Introducción:

La pirosecuenciación es un método que permite analizar secuencias de ADN de corta o media longitud con alta precisión y de una manera cuantitativa. Este método tiene varias aplicaciones como secuenciación por síntesis, estudios de metilación y de inestabilidad de polimorfismos.

En nuestro laboratorio se utiliza la secuenciación por síntesis para determinar y diagnosticar mutaciones en los genes K-RAS, BRAF Y EGFR, enfocadas al análisis de dianas terapéuticas y tratamiento personalizado de pacientes oncológicos.

## Objetivos:

- Optimizar la técnica de pirosecuenciación en muestras procedentes de tejido parafinado y citologías.

## Material y Métodos:

Materiales: 132 muestras de tejido parafinado y 15 citologías, extractor de ácidos nucleicos, espectrofotómetro, termociclador, aparato de electroforesis capilar, pirosecuenciador.

Método: En primer lugar, es necesario comprobar la calidad del ADN extraído de los cortes de parafina o citologías midiendo tanto su concentración como su pureza (la relación entre absorbancias a longitudes de onda de 260nm y 280nm; ratio A260/280). Posteriormente se realiza la amplificación de la región de interés (100-300pb) mediante la reacción en cadena de la polimerasa, PCR, con un cebador (primer) biotinilado; a continuación comprobamos por electroforesis capilar el tamaño de la banda y la concentración del producto de PCR biotinilado. La preparación de las muestras para su pirosecuenciación consiste en la unión al producto de PCR biotinilado de bolas de estreptavidina-seforosa y desnaturalización de la doble cadena de ADN para el aislamiento de la cadena sencilla biotinilada. A continuación se realiza la hibridación con los primers de secuenciación y finalmente las muestras son secuenciadas acoplando la síntesis de ADN a una reacción quimioluminiscente que permite la determinación de las secuencias a tiempo real.

## Resultados:

Analizamos 147 casos (43 de EGFR, 65 de K-RAS, 39 de BRAF) y comprobamos que para obtener unos resultados inequívocos, robustos y que permitan el diagnóstico de mutaciones en los genes K-RAS, BRAF Y EGFR, es imprescindible que las muestras de ADN cumplan los siguientes criterios de calidad: concentración >15 ngr/μl; ratio A260/280: 1,8-2; concentración final de producto de PCR biotinilado: 10ngr. Los porcentajes de mutación obtenidos fueron: 41,7% EGFR, 70% KRAS y 25,7% BRAF.

## Conclusiones:

La calidad del ADN utilizado en la técnica de pirosecuenciación es fundamental para obtener resultados consistentes. Además de que el ADN cumpla los criterios de concentración (>15 ngr/μl) y pureza (ratio A<sub>260/280</sub>: 1,8-2), es imprescindible utilizar la concentración final adecuada de producto de PCR (10ngr) en la reacción de pirosecuenciación. Por lo tanto, el control de calidad de las muestras de ADN y de los procesos implicados en la técnica de pirosecuenciación es condición sine qua non para obtener resultados óptimos. Esto se hace aun más importante cuando esta técnica se utiliza para diagnóstico molecular en el estudio de dianas terapéuticas.

### ANÁLISIS DE LA SENSIBILIDAD DE VARIOS MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS PARA MESOTELIO EN MUESTRAS DE CITOLOGÍA EN MEDIO LÍQUIDO

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: DURAN VAZ, MAGDALENA. HURI DE LAMA, SILVIA. PAREDES BASTOS, ROSA. ORTIZ REY, JOSE ANTONIO

Centro de trabajo: HOSPITAL XERAL (CHUVI)

Provincia: PONTEVEDRA

Correo electrónico del primer firmante: Maria.Magdalena.Duran.Vaz@sergas.es

#### Resumen:

Análisis de la sensibilidad de varios marcadores inmunohistoquímicos para mesotelio en muestras de citología en medio líquido.

#### Introducción:

Con cierta frecuencia se requiere el estudio de inmunohistoquímica (IHQ) de las muestras de derrames, para el diagnóstico citológico de los mismos. Entre los marcadores analizados, suelen estar los de mesotelio. Nuestro objetivo ha sido analizar la sensibilidad de tres de los marcadores más utilizados en IHQ para identificar células mesoteliales.

#### Material y Métodos:

Sobre un total de 10 muestras de líquidos (6 pleurales, 2 ascíticos y 2 lavados peritoneales), procesados en monocapa (Thinprep<sup>®</sup>), se realizó técnica de IHQ usando anticuerpos anti citoqueratinas 5 y 6 (CK 5/6) (clon D5/16B4, prediluido, Ventana-Roche), calretinina (clon CP65, prediluido, Ventana-Roche) y D2-40 (podoplanina) (clon D2-40, dilución 1:50, Ventana-Roche). Se utilizó el método de multímero conjugado (Ventana-Roche). La recuperación antigénica se realizó con calor, en el autotefidior.

Se valoró al microscopio la intensidad (+, ++, +++) así como el porcentaje de células teñidas (>80%: tinción difusa; menos: tinción focal).

#### Resultados.

- CK 5/6: La tinción fue difusa en la mitad de las muestras. Los otros cinco casos mostraron tinción focal. En cuanto a la intensidad, fue elevada (+++) en 6 casos, moderada (++) en 2 de ellos y débil en los otros 2. Los casos con tinción focal fueron de intensidad alta (3) ó débil (2 muestras).

- Calretinina: La tinción fue difusa en 7 casos y focal en los otros 3. La intensidad fue moderada (7 muestras) o débil (3 casos).

- D2-40: La expresión fue difusa en 7 casos y focal en los otros 3, pero la intensidad fue moderada (3 casos) o, en general, leve (+) como ocurrió en 7 muestras.

#### Conclusiones:

- En nuestra experiencia, si consideramos en conjunto intensidad de la tinción y porcentaje de células teñidas, el marcador más sensible para identificar mesotelio ha sido CK 5/6.

- Teniendo en cuenta que este marcador (y los otros) no es completamente específico, se recomienda, siempre que la celularidad de la muestra lo permita, usar no un solo anticuerpo sino paneles que incluyan varios anticuerpos.

#### Objetivos:

1-Mostrar la importancia de diferentes técnicas anatomopatológicas (histología, inmunohistoquímica e hibridación in situ) en la identificación de los carcinomas gástricos con alteraciones de HER2.

2-Analizar los resultados obtenidos mediante inmunohistoquímica y DuoCISH e identificar aquellos casos diagnosticados de 2+ y 3+ amplificadas, que son los que se pueden beneficiar del tratamiento con trastuzumab.

#### Material y Métodos:

Se han estudiado un total de 145 casos de carcinomas gástricos correspondientes a los años 2010 y 2011 diagnosticados en nuestro servicio, de los cuales 127 (87.6%) fueron obtenidos por gastroscopia y 18 (12.4%) proceden de piezas de gastrectomía.

Todas estas muestras fueron fijadas en formol tamponado al 10%, a temperatura ambiente y constante, y posteriormente procesadas de forma estándar.

El estudio inmunohistoquímico (IHQ), nos permitió conocer la expresión de la proteína HER2, usando el kit HercepTest<sup>™</sup> para sistemas de automatización Link (Dako, Glostrup, Dinamarca), pudiendo clasificar los resultados como: negativo (0), negativo (1+), indeterminado (2+), positivo (3+).

Y por último, se realizó una hibridación in situ (HIS) con la técnica de doble marcaje (HER2 y CEN17) DuoCISH (Dako, Glostrup, Dinamarca).

#### Resultados:

En el estudio histológico convencional 108 casos eran de tipo intestinal (74.5%), 32 difusos (22.1%), 3 mixtos (2.1%), y 2 casos (1.3%) que se incluirían en el apartado de otros.

En el estudio inmunohistoquímico obtuvimos 37 (25.5%) casos negativo (0), 20 (13.8%) casos negativo (1+), 72 (49.7%) casos indeterminado (2+) y 16 (11%) casos positivo (3+).

En la hibridación in situ: 28 casos resultaron amplificadas (19.3%) y 117 no amplificadas. Ningún caso negativo por IHQ (0, 1+) resultó amplificado. Todos los casos positivos (3+) mostraron amplificación. De los casos borderline (2+) 12/72 (16.7%) resultaron amplificadas.

El porcentaje de casos HER2 positivos (2+ amplificadas y 3+; 19.3%) coincide con las series previamente publicadas (Bang et al, 2010; Garcia-Garcia, 2011); sin embargo, al contrario que en trabajos anteriores, en muestra casuística no se observó amplificación en ningún caso negativo por IHQ (0, 1+). Y además, todos los casos positivos por IHQ (3+) presentaron amplificación.

#### Conclusiones:

Gracias a todas las técnicas realizadas pudimos clasificar y tipificar de forma exacta todas las muestras, y por lo tanto identificar 28 de los 145 casos a estudio como positivos para HER2, es decir, que un 19.3% de nuestros casos pudieron ser tratados con trastuzumab.

Este resultado es de gran importancia práctica pues permitirá la determinación inicial de HER2 en cáncer gástrico tanto por inmunohistoquímica como por hibridación in situ (al igual que se está haciendo en cáncer de mama) dada la óptima correlación que obtuvimos entre ambas técnicas

### ESTUDIO DE TOLERANCIA IN VITRO DE PELÍCULAS DE ÁCIDO HIALÚRONICO-ÁCIDO ITACÓNICO DISEÑADAS PARA LA ADMINISTRACIÓN TÓPICA OCULAR DE FÁRMACOS.

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: Antonio López-García, Javier A. Calles, Laura Soriano-Romaní, Santiago D. Palma, Enrique M. Vallés, Yolanda Diebold.

Centro de trabajo: Instituto de Oftalmobiología Aplicada-Universidad de Valladolid

Provincia: Valladolid

Correo electrónico del primer firmante: antonio.lopez@ioba.med.uva.es

#### Introducción:

Actualmente, la administración tópica de fármacos en la superficie ocular es la vía más deseable para el tratamiento de enfermedades oculares. Sin embargo, la rápida pérdida precorneal, junto a la pobre permeabilidad de las formas farmacéuticas tradicionales a través de la córnea, limitan significativamente la efectividad de ese tipo de terapias. Gracias a la colaboración internacional de nuestro grupo de trabajo con la Planta Piloto de Ingeniería Química (PlaPiQui) de Bahía Blanca (Argentina), estamos desarrollando unos sistemas biopoliméricos, en forma de película (films), para liberar fármacos de forma más eficaz y controlada sobre la superficie ocular.

### CORRELACIÓN ENTRE INMUNOHISTOQUÍMICA E HIBRIDACIÓN IN SITU EN LA DETERMINACIÓN DE HER2 EN CÁNCER GÁSTRICO.

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: Alejandro Seoane Seoane, Magali Piso Neira, Trinidad Yolanda Rico Rodríguez, Patricia Viaño Nuñez, Beatriz Fernandez Rodríguez, Tomás García Caballero, José Ramón Antunez Lopez

Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario, Santiago de Compostela.

Provincia: A CORUÑA

Correo electrónico del primer firmante: alejandroseoane4@hotmail.com

#### Introducción:

A medida que la medicina avanza, la tendencia en oncología es que los tratamientos sean cada vez más personalizados, la denominada medicina a la carta. En la clínica diaria se ha demostrado que los carcinomas gástricos en estadios avanzados con alteraciones de HER2 responden eficazmente al tratamiento específico con trastuzumab, incrementando el índice de supervivencia. Es por ello, que la identificación de alteraciones de HER2 es de vital importancia para la personalización del tratamiento para cada paciente.

## Objetivos:

El objetivo de este estudio fue, pues, determinar la biocompatibilidad de los films desarrollados a partir de ácido hialurónico (AH) y ácido itacónico (AI) como materiales base con células de la superficie ocular.

## Material y Métodos:

Se prepararon dos tipos de films según el agente entrecruzante utilizado: uno usando glutaraldehído (GTA) y otro usando polietilenglicol diglicidil éter (PEGDE). Además, se preparó un tercer film como control usando sólo AH. Para la preparación de los films se disolvió AH y AI en agua bi-destilada. Tras 24h de agitación se incorporó el agente entrecruzante, manteniendo la agitación otras 24h. Posteriormente, se colocó la mezcla sobre una superficie plana y se dejó secar hasta la obtención del film. Se estudió su morfología mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). Además, se midió el pH de los medios de cultivo puestos en contacto con los distintos films.

Para realizar los estudios de tolerancia in vitro se utilizó la línea de células epiteliales de córnea humana HCE (Araki-Sasaki et al., 1995), mantenida con medio de cultivo DMEM/F12 suplementado. Para ver los efectos de los films sobre las células se realizaron 3 ensayos diferentes:

**Ensayo de citotoxicidad (XTT):** se plantaron 10.000 células/pocillo en placas de 96. Cuando alcanzaron el nivel de confluencia óptimo, se expusieron al contacto de los diferentes films durante 24h. Se añadió una solución de cloruro de benzalconio al 0.01% durante 5 min como control de toxicidad. Posteriormente, se retiró el medio y los films que estaban en contacto con las células, se lavaron con PBS estéril, se incubaron con el kit de XTT en medio sin rojo fenol durante 17h a 37°C en oscuridad y, para finalizar, se midió la absorbancia una longitud de onda de 450nm; como medida de referencia se usaron 620nm.

**Ensayo de proliferación (Alamar Blue):** para este tipo de ensayo se plantaron 40.000 células/pocillo en placas de 24. Después de 24h se reemplazó el medio por otro sin ningún tipo de suplemento durante otras 24h. Una vez transcurrido este tiempo, se pusieron los diferentes films sobre las células 24h más. Para este ensayo se retiró el medio y los films y se añadió el reactivo Alamar Blue al 10% en medio puro durante 4h a 37°C. Se recogió el medio con el reactivo y se midió la fluorescencia a una longitud de onda de excitación de 560nm y una emisión de 590nm. Este proceso se repitió a las 48h.

**Ensayo de inflamación:** la posible inducción de inflamación producida por los films en las células de la superficie ocular se evaluó mediante la técnica de ELISA, midiendo los niveles de la interleucina 6 (IL-6). Se ha demostrado que los niveles de IL-6 están aumentados en condiciones inflamatorias. Para la evaluación se recogieron los sobrenadantes de las células en contacto con los films y de las células en contacto con la citoquina TNF± durante 24h, que nos sirvió como control positivo de inducción de inflamación (aumento en la producción de IL-6).

## Resultados:

Todos los films mostraron poros de diferentes tamaños en las imágenes de SEM. El pH del medio de cultivo en contacto con los films se mantuvo constante durante todos los experimentos, sin observarse alteraciones significativas respecto al pH del medio control. Se observó un aumento de la citotoxicidad y una disminución en la proliferación en las células expuestas a los films entrecruzados con GTA, mientras que en las células expuestas a los films entrecruzados con PEGDE y/o en los films control no se observó toxicidad y la proliferación fue similar a la de las células control. No se observó un aumento en los niveles de IL-6, con respecto al control estimulado con TNF±, en las células expuestas a los diferentes films.

## Conclusiones:

La formulación de AH-AI entrecruzado con PEGDE tiene buenas características en cuanto a la biocompatibilidad con la línea celular de córnea humana HCE, por lo que este sistema podría utilizarse como un buen vehículo de fármacos en forma tópica para las células de la superficie ocular.

## Financiación:

FEDER-CICYT MAT2010-20452-C03-01 (Ministerio de Ciencia y Tecnología, España), EADIC II-Erasmus Mundus Scholarship y CONICET Universidad Nacional del Sur (Argentina).

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 173

## MUTACIÓN DEL GEN EGFR EN CARCINOMA PULMONAR DE CÉLULAS NO PEQUEÑAS

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: Marta Vázquez Vigo, María Teresa Margarita Blanco Tato, Raquel Pérez-Becerra Ferreira, María Elena Couso Folgueiras, María Ángeles De Blas Filgueira, Mar Pérez Costoya, Ihab Abdulkader Nallib.

Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario

Localidad: Santiago de Compostela Código Postal: Provincia:

Correo electrónico del primer firmante: rula65@hotmail.com

## Introducción:

El carcinoma de pulmón (CP) es la primera causa de muerte por cáncer en los países desarrollados, tanto en hombres como en mujeres. Generalmente, los CPs se clasifican en carcinoma pulmonar de células pequeñas y carcinoma pulmonar de células no pequeñas (CPCNP). Non small cell lung cancer accounts for approximately 85% of all lung cancers. Non-small cell lung cancer is divided further into adenocarcinoma, squamous cell carcinoma, and large cell carcinoma histologies. El CPCNP representa un 85% de todos los CPs y se clasifica en los siguientes subtipos histológicos: adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas (epidermoide) y carcinoma de células grandes. El CP presenta diferentes alteraciones genéticas que son específicas para cada tipo (y subtipo) histológico. Con frecuencia, en el CPCNP hay alteraciones en el gen EGFR y en el número de copias de dicho gen. En estos casos, hay también una menor incidencia de otras mutaciones genéticas en los genes K-RAS, HER2 y BRAF. All share similar treatment approaches and prognoses but have distinct histologic and clinical characteristics. En los pacientes con CPCNP es importante conocer el estado mutacional del gen EGFR para la identificación de aquellos pacientes que pueden beneficiarse de un tratamiento personalizado con inhibidores de tirosina-kinasas (TKIs).

## Objetivo:

Se pretende determinar la incidencia de mutaciones del EGFR en los pacientes con CPCNP diagnosticados en el Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela, España.

## Material y Métodos:

Se investigó el estado mutacional del gen EGFR en 211 muestras de pacientes con CPCNP. El estudio se realizó a partir de piezas quirúrgicas de tumores primarios o metastásicos, biopsias endoscópicas (bronquiales y transbronquiales), biopsias con aguja gruesa y muestras citológicas (derrames pleurales, cepillados bronquiales y de punción aspiración con aguja fina [PAAF]). Tras revisión de las muestras para asegurar la selección histológica y/o citológica de material tumoral representativo, se realizó macrodissección y/o microdissección láser para asegurar una mayor proporción de células neoplásicas. La detección de las mutaciones se realizó mediante PCR cuantitativa en tiempo real utilizando el sistema Abi 7500 y mediante el kit de Qiagen (EGFR RQ PCR kit 24,V1) siguiendo las instrucciones del fabricante.

## Resultados:

De las 211 muestras, el 88,7% correspondían al tumor primario y el 11,3% a lesiones metastásicas; sólo un 6,6% de todas las muestras fueron no valorables. Se detectaron mutaciones del gen EGFR en 29 casos que representaron el 13,7% de las muestras, de las cuales el 72,5% correspondían a mujeres y el 27,5% a hombres, con una edad media de 61,5 (rango de 39 a 87 años). Por tipo histológico y frecuencia encontramos 24 (82,7%) adenocarcinomas, 1 (3,4%) carcinomas epidermoides, 1 (3,4%) adenocarcinomas metastásicos, 1 (3,4%) carcinomas indiferenciados de células grandes, y 2 (6,8%) carcinomas bronquioloalveolares. De todas las mutaciones detectadas, el 68,9% fueron delecciones y el 31,1% mutaciones puntuales. En cuanto a su distribución, el 68,9% de las mutaciones se localizaron en el exón 19, el 31,1% en el exón 21. El 14,8% de los pacientes portadores de mutación del EGFR eran fumadores.

## Conclusiones:

En relación con los datos de la literatura, la distribución de las mutaciones del gen EGFR en los pacientes de nuestra serie fue similar a la descrita en pacientes asiáticos y no asiáticos. Esta distribución semejante de las mutaciones activadoras del EGFR sugiere que el uso de TKIs permitirá obtener idénticos beneficios en los pacientes de nuestro entorno.

## Bibliografía:

- Pirker R, Herth FJ, Kerr KM, et al. Consensus for EGFR mutation testing in non-small cell lung cancer: results from a European workshop. J Thorac Oncol. 2010 ; 5:1706-13.
- Rosell R, Moran T, Queralt C, Porta R, Cardenal F, Camps C, et al. Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. N Engl J Med 2009; 361:958-67.
- Sequist LV, Bell DW, Lynch TJ, Haber DA. Molecular predictors of response to epidermal growth factor receptor antagonists in non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol 2007;25:587-95.
- Herbst RS, Heymach JV, Lippman SM. Lung cancer. N Engl J Med. 2008;359:1367-80

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 177

## EVALUACIÓN DE HER2 EN UN TIPO DE CANCER GÁSTRICO ESPECÍFICO CON TASA MÁS ALTA DE MORTALIDAD EN LA POBLACION ESPAÑOLA

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: Rosa Mª García Centeno, Mª Teresa Valdajos de la Fuente, Francisco Jose Ortega Rojo, Esther Uña Cidon, Elena García Lagarto, Jose Ignacio Peral

Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario

Provincia: Valladolid

Correo electrónico del primer firmante: rgcenteno@gmail.com

### Introducción:

El Cáncer Gástrico representa la segunda causa de muerte en el mundo. La resección radical es la base de las primeras etapas del tratamiento en las que, en los casos más avanzados hay una supervivencia muy baja

El Her2 es el factor biológico más importante implicado.

### Objetivo:

Este estudio tiene como objetivo mostrar la relación entre la positividad de Her2 en pacientes con resección completa.

### Material y Métodos:

Estudio retrospectivo con pacientes con cáncer gástrico diagnosticado en nuestro hospital entre 2003-2005. A las muestras de pacientes sometidos a cirugía se realizaron estudios de Inmunohistoquímica y Fish con Her2 y se valoró por patólogos expertos.

### Resultados:

Fueron incluidos 120 casos. La expresión total detectada fue de 7,5%. Se estudio la correlación de los casos Her2 positivo con sexo femenino, los estadios avanzados de los casos, los grados histológicos y el tipo intestinal.

Las recurrencias tempranas fueron más altas en Her2 positivo (66.6% vs 35.4%, p 0.048). La media DFS de Her2 positivo fueron de 15 meses (rango 2-67 meses) y la supervivencia fue de 25 meses (rango 10-67 meses).

En los casos de pacientes con Her2 negativo, la media DFS fue de 27 meses (rango 5-67 meses) y la supervivencia fue de 47 meses (rango 29-67 meses).

### Conclusiones:

Estos resultados ponen de manifiesto la relevancia del Her2 en Cáncer Gástrico como factor de pronóstico independiente y apoya el análisis de dicho prueba como práctica diaria

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 178

## REVISION DE CASOS DE DIVERTICULOS APENDICULARES

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: Rosa M<sup>a</sup> García Centeno, M<sup>a</sup> Teresa Valdajos de la Fuente, M<sup>a</sup> Jesus Lagarto Benito, M<sup>a</sup> Yolanda Ovelar Arribas, Jose Ignacio Peral

Centro de trabajo: Hospital Clinico Universitario

Provincia: Valladolid

Correo electrónico del primer firmante: rgcenteno@gmail.com

### Introducción:

Los divertículos se pueden localizar a lo largo de todo el tracto digestivo, su ubicación en el apéndice cecal es infrecuente y difícil de estimar su frecuencia debido a que la mayoría son descubiertos casualmente, constituyendo un hallazgo anatomopatológico más que un diagnóstico preoperatorio.

Morfológicamente los divertículos pueden ser congénitos, que se presentan en el lado anti mesentérico como una salida, con una pared muscular completa y los divertículos adquiridos, que se muestran con ausencia de la capa muscular propia.

La frecuencia de estos divertículos varía según diferentes autores, entre un 0,004% y un 2%, afectan a ambos sexos por igual y se desarrollan a lo largo del área de penetración de arterias a menudo secundarios a inflamación o tumor.

Los más frecuentes son los divertículos adquiridos, que suelen ser múltiples, aparecen en el borde mesentérico y se asocian a neoplasias mucosas que se desarrollan debido al incremento de la presión en la mucosa intraluminal

### Objetivo:

Evaluar la incidencia de divertículos apendiculares en nuestro hospital en un periodo de cinco años.

### Material y Métodos:

Se hace un estudio de pacientes intervenidos en nuestro hospital, ya fuera por apendicitis aguda, o en el contexto de otra intervención que requirió la extirpación del apéndice.

El periodo de estudio comprende desde Enero del 2006 hasta Enero del 2012, siendo intervenidos un total de 3334 pacientes.

Con la tinción universal en Anatomía Patológica, hematoxilina/eosina, es diagnosticada por los patólogos esta patología

### Resultados:

Después de revisar los 3334 pacientes intervenidos de apendicetomía, solo dos presentaron divertículos apendiculares, siendo los dos, divertículos adquiridos y en pacientes de género masculino

### Conclusiones:

La incidencia de divertículos en apéndice cecal en nuestro hospital es muy baja, estando por debajo de la incidencia mínima de las publicaciones consultadas, con un 0,002%.

Al diagnosticarse con H/E su coste es mínimo y no se incrementa el trabajo en el laboratorio.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 189

## IDENTIFICACIÓN DE LÍNEAS CELULARES DE CARCINOMA ESCAMOSO DE CABEZA Y CUELLO RESISTENTES Y SENSIBLES AL CISPLATINO

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: Navas Jiménez,Luis Carlos; Téllez Gabriel, Marta; León Vintró, Xavier; López Vilas, Montse; López Pousa, Antonio; Mangues Bafalluy, Ramón; Pavón Ribas, Miguel Angel.

Centro de trabajo: Grupo de Oncogénesis y Antitumorales (GOA), Instituto de Investigaciones Biomédicas Sant Pau (IIB-Sant Pau)

Correo electrónico del primer firmante: Inavas@santpau.cat

### RESUMEN:

#### IDENTIFICACIÓN DE LÍNEAS CELULARES DE CARCINOMA ESCAMOSO DE CABEZA Y CUELLO RESISTENTES Y SENSIBLES AL CISPLATINO

Navas,Luis Carlos<sup>1,2</sup>; Téllez Gabriel, Marta<sup>1,2</sup>; León, Xavier<sup>2,3</sup>; López, Montse<sup>3</sup>; López Pousa, Antonio<sup>2,4</sup>; Mangues, Ramón<sup>1,2</sup>; Pavón, Miguel Angel<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup> Grupo de Oncogénesis y Antitumorales (GOA), Instituto de Investigaciones Biomédicas Sant Pau (IIB-Sant Pau), Barcelona, España. <sup>2</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Barcelona, España. <sup>3</sup> Departamento de Otorrinolaringología, IBB-Sant Pau, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, España. <sup>4</sup> Departamento de Oncología Médica, IBB-Sant Pau, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, España.

### Introducción:

El carcinoma escamoso de cabeza y cuello (CECC) es el sexto cáncer más frecuente en los países desarrollados. Los factores de riesgo más importantes asociados con la enfermedad son el consumo crónico de alcohol y tabaco. La estadificación de los pacientes con CECC se realiza siguiendo la clasificación TNM, basada en la extensión del tumor (T), la afectación de ganglios linfáticos regionales (N) y la presencia de metástasis a distancia (M).

Los estadios iniciales (I-II) se tratan con radioterapia ó cirugía, obteniéndose tasas de curación elevadas. No obstante dos terceras partes de los pacientes son diagnosticados en estadios avanzados (III-IV) y no siempre responden al tratamiento habitual de quimioterapia en combinación con radioterapia.

Los fármacos genotóxicos clásicos utilizados en el tratamiento de quimioterapia (cisplatino y 5-fluoracilo) producen lesiones en el ADN que si no son reparadas conducen a las células tumorales a la muerte. Sin embargo, algunas células tumorales presentan o adquieren mecanismos de resistencia al tratamiento antitumoral.

Los pacientes presentan unas características clínicas heterogéneas y a menudo tumores similares desde el punto de visto histológico responden de modo diferente al tratamiento.

### Objetivos:

El propósito de este estudio es la búsqueda de líneas celulares de carcinoma escamoso de cabeza y cuello resistentes y sensibles al cisplatino.

### Material y Métodos:

Realizamos ensayos de citotoxicidad mediante XTT en un panel de 7 líneas celulares de CECC (FaDu, SCC-9, SCC-25, UM-SCC-22A, UM-SCC-22B, UM-SCC-74B y UM-SCC-74B 200) con un rango de concentraciones de cisplatino (2,5-50 µM) durante 48h para calcular la concentración de fármaco que mata o inhibe el crecimiento del 50% de las células (IC50). Observamos la morfología de las células al microscopio visible en crecimiento exponencial. Y finalmente, evaluamos mediante tinción de Hoescht si el tratamiento con cisplatino durante 24h a una concentración IC<sub>50</sub> (µM) induce muerte por apoptosis en las diferentes líneas tumorales.

### Resultados:

Identificamos en el ensayo de citotoxicidad dos líneas celulares sensibles (UM-SCC-22A y UM-SCC-22B) y dos líneas celulares resistentes (SCC-9 y FaDu) al tratamiento con cisplatino. Visualizando las líneas de CECC en el microscopio óptico pudimos observar diferencias en la morfología de las células. Las líneas celulares más resistentes al fármaco, FaDu y SCC-9 presentaban un aspecto mesenquimal y fusiforme mientras que las líneas más sensibles al fármaco UM-SCC-22A y UM-SCC-22B presentaban un crecimiento en colonias y de aspecto epitelial. Con el experimento de apoptosis por tinción nuclear con Hoescht pudimos observar condensación y fragmentación nuclear en todas las líneas celulares de CECC tratadas con cisplatino.

### Conclusión:

Hemos identificado dos líneas celulares resistentes y dos líneas celulares de carcinoma escamoso de cabeza y cuello sensibles al cisplatino que podrían ser útiles para el estudio de los mecanismos moleculares implicados en la resistencia al fármaco.

### ALTERNATIVA Y PROGRESO : “DESARROLLO DE MATRICES CARDIACAS HUMANAS”

Trabajo de: *Anatomía Patológica*

Autor/a/s: Acebes Gozalo Judit Rebeca, González-Nicolás González M<sup>a</sup> Ángeles, Costanza Salvatore, Suárez Sancho Susana, Plasencia Martín Virginia, Velasco Sevillano Pilar, Fernández-Avilés Francisco.

Centro de trabajo: HOSPITAL GREGORIO MARAÑÓN

Provincia: MADRID

Correo electrónico del primer firmante: juthre@yahoo.es

#### Introducción/Objetivos:

La enfermedad cardiovascular ha superado a la infección y al cáncer como primera causa de mortalidad en el mundo. Sin duda influye la prevalencia de factores de riesgo cardiovascular clásicos (hipertensión arterial, obesidad y diabetes mellitus tipo 2). También los avances terapéuticos de las últimas décadas han disminuido la mortalidad aunque, la insuficiencia cardíaca sigue siendo la primera causa de muerte en la enfermedad cardiovascular.

Desarrollar un corazón bioartificial requiere disponer de una matriz tridimensional donde albergar terapia celular autóloga que evite la inmunosupresión. Mostramos los resultados iniciales de un proyecto pionero en la obtención de matrices cardíacas completas capaces de mantener su arquitectura tridimensional y vascular.

#### Material y Métodos:

Para ello se ha contado con la colaboración de la ONT (Organización Nacional de Trasplantes) y se han obtenido 23 corazones humanos que habían sido rechazados para trasplante, siendo útiles para este propósito (dejando 4 de ellos como controles). El proceso de decelularización se ha llevado a cabo basándonos en el método descrito por el grupo colaborador de este proyecto de la Universidad de Minnesota (dirigido por la Dra. Doris Taylor) mediante reperfusión con SDS (Dodecilsulfato Sódico). La decelularización fue iniciada entre el 1 y 5 días después del explante y la perfusión se realizó a temperatura ambiente durante 4 a 8 días.

Las matrices cardíacas obtenidas se evalúan estructural e histológicamente (microscopía de barrido tinciones hematoxilina-eosina, Masson, Reticulina, etc y marcajes inmunohistoquímicos), viendo la conservación de la vasculatura epicárdica y miocárdica y la ausencia de células nativas; recogiendo para ello muestras de diferentes partes de manera randomizada.

Se ha valorado también la carga de DNA que persiste en cada matriz antes y después del proceso de decelularización, mediante la medida de Absorbancia y por fluorimetría mediante PicoGreen.

Hemos empezado a analizar y probar la biocompatibilidad de las matrices in Vitro, utilizando células madre mesenquimales humanas procedentes de médula ósea (MSC) y cardiomiocitos de embrión de rata (H9), pudiendo ver los resultados en tejido completo mediante microscopía confocal.

#### Resultados:

La decelularización completa del corazón cardíaco es observable a partir del día 4, sin mejoría al día 8. Las regiones más finas (grandes vasos y aurículas) fueron las primeras partes en decelularizarse, y el tejido miocárdio el último. Las matrices decelularizadas obtenidas preservaron su arquitectura intacta: disposición estructural y biomecánica. La vasculatura epicárdica y miocárdica permanece preservada y nos permitió volver a perfundir la matriz decelularizada. Histológicamente no se observó la presencia de células nativas y la composición de colágeno, elastina y fibronectina permaneció intacta. La carga de DNA que persiste en cada matriz después del proceso de decelularización es nimia y dentro de los límites que aparece en la literatura. La biocompatibilidad de las matrices fue analizada in vitro utilizando MCS y H9, observando su supervivencia y proliferación a 1, 3 y 7 días.

#### Conclusión:

Este estudio muestra, por primera vez, que decelularizar corazones humanos completos es posible. Las matrices obtenidas preservan su arquitectura tridimensional y vascular y son biocompatibles con células de estirpe más y menos diferenciada. Estos hallazgos representan, bajo nuestro punto de vista, el primer paso hacia el desarrollo de un corazón bioartificial completo.

### MEJORAS EN EL ESTUDIO DIAGNOSTICO DE LA BIOPSIA SELECTIVA DEL GANGLIO CENTINELA DE MAMA

Trabajo de: *Anatomía Patológica*

Autor/a/s: Gonzalez Rivero Amelia, Alvarez Fernandez Montserrat, Ribao Gonzalez Maria Alicia, Feito Rodriguez Fabiola

Centro de trabajo: Hospital Universitario Central de Asturias

Provincia: Asturias

Correo electrónico del primer firmante: ameglez2000@yahoo.es

#### Introducción:

Ganglio Centinela se define como el primer ganglio de una cadena linfática que recibe el flujo linfático desde el tumor primario y, por tanto, el primero en acoger las células tumorales diseminadas por dicho sistema. Su estudio es de suma importancia para establecer un pronóstico, estadio y tratamiento del cáncer de mama.

#### Objetivos:

Teniendo en cuenta los casos diagnosticados como Carcinoma infiltrante de mama durante el año 2011, nuestro objetivo es conocer la correlación entre el diagnóstico intraoperatorio y el diagnóstico definitivo.

#### Material y Métodos:

- En este año tenemos, 114 pacientes de los cuales 112 son mujeres y 2 varones en edades comprendidas entre 32 y 82 años. Todos ellos están analizados mediante BAG (biopsia de aguja gruesa) y diagnosticados de Carcinoma infiltrante de mama (113 ductales y 1 lobulillar), con previos estudios clínicos y ecográficos negativos de axila.

Se recibe en fresco el ganglio, se mide y se realizan cortes perpendiculares al eje mayor cada 2-3 mm. Y se realizan los siguientes estudios:

**INTRAOPERATORIA** Impronta o raspado de las superficies de corte, fijándose en alcohol y tiñéndose con la técnica de hematoxilina-eosina. Si el resultado es positivo se procederá a la linfadenectomía axilar y si es negativo se procederá a estudiar los ganglios de manera protocolizada.

**PARAFINA** Cada sección se incluye en una cápsula, orientando el bloque de manera que la superficie de corte, sea la contraria a la superficie de raspado. Se realizan cortes seriados cada 100 micras hasta agotar el bloque, se tiñen con hematoxilina eosina los casos diagnosticados de carcinoma ductal y en el caso de carcinoma lobulillar, se tiñen con Citoqueratina 7.

#### Resultados:

- Los resultados obtenidos en el año 2011 son:

- 17 positivos en intraoperatoria, siguieron siendo positivos en parafina.

- 93 negativos en intraoperatoria, también fueron negativos en parafina, siendo 92 ductales y 1 lobulillar.

- 4 negativos en intraoperatoria, fueron positivos en parafina. De los cuales, 2 son metástasis mayores de 2 mm., 1 micrometástasis menor de 2 mm. y otro células tumorales aisladas. Recibiendo un promedio de 2 ganglios por caso, obtenemos 3-4 improntas y 15 cristales que se tiñen según protocolo.

#### Conclusiones:

Esto supone un avance en cuanto al estadio del diagnóstico y posterior tratamiento ya que es una técnica sencilla, práctica y de bajo coste donde los falsos negativos son asumibles por la propia técnica.

### CARCINOMA RENAL METASTÁSICO DE LOCALIZACIÓN ATÍPICA

Trabajo de: *Anatomía Patológica*

Autor/a/s: MARIA SAGRARIO RODRÍGUEZ MEIRIÑO, MARIA LUISA LÓPEZ VEGA Y MARIA DEL CARMEN PENÍN CORDERI

Centro de trabajo: COMPLEXO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO DE OURENSE

Provincia: OURENSE

Correo electrónico del primer firmante: mrodmei@sergas.es

#### Introducción:

El Carcinoma renal de células claras supone el 2-3% de las neoplasias malignas del adulto. En los últimos años su incidencia ha aumentado, influyendo en ello el desarrollo y empleo sistemático de métodos de diagnóstico por imagen (ecografía, TAC, RMN & ) que permiten el diagnóstico precoz en estadios asintomáticos. Sin embargo, y pese a la precocidad diagnóstica, un tercio de estos tumores presentan enfermedad metastásica en el momento del mismo (metástasis sincrónicas) y alrededor de otro tercio las presentarán en el futuro (metástasis metacrónicas) incluso hasta 20 años después del diagnóstico inicial.

#### Presentación del Caso:

Paciente varón de 51 años, con antecedentes de Carcinoma renal tipo papilar con áreas fusiformes intervenido hace 6 años (nefrectomía izquierda), sufre derrame pleural bilateral postoperatorio que se resolvió de forma espontánea sin drenaje. Posteriormente nódulo pulmonar único intervenido con diagnóstico de nódulo fibroso.

Actualmente molestias digestivas. Se realiza ecoendoscopia lineal visualizando un parénquima pancreático de ecoestructura normal, delimitando cuatro lesiones hipoeoicas, bien delimitadas y de pequeño tamaño; 11mm en cola de páncreas, 8.5mm en cuerpo hacia cola y dos de 8 y 5mm respectivamente en la región cefálica. Wirsung de calibre normal. Se realiza PAAF (Punción Aspiración con Aguja Fina) sobre la lesión de 8.5mm en cuerpo-cola de páncreas, con sospecha diagnóstica de tumor endocrino de páncreas.

#### Material y Métodos:

PAAF bajo control ecoendoscópico en la cual se obtienen 3 extendidos citológicos que se tiñen con Papanicolau y material de citología sólida que se incluye como bloque celular, fijándose en formol tamponado al 10% para su procesado y posterior inclusión en parafina, se realiza técnica histológica de rutina (Hematoxilina-Eosina) para microscopía óptica. Realizándose posteriormente estudio inmunohistoquímico con Cytoqueratina 7, Cytoqueratina 20, Cytoqueratina AE1-AE3, Renal Cell Carcinoma (RCC), Vimentina, Cromogranina, Synaptophysina, CD 56, CD117 (C-kit) y CD10.

#### Conclusión:

Las metástasis pancreáticas suponen el 2-3% de los tumores pancreáticos, siendo sus focos primarios más frecuentes pulmón, colon, mama y cerebro. La enfermedad metastásica en páncreas por cáncer renal es poco frecuente (se han publicado incidencias que oscilan entre el 1 y 2.8 %) y suele presentarse de forma sincrónica, aunque se han descrito casos hasta 27 años después de la nefrectomía.

#### Bibliografía:

Carcinoma renal metastático de localización atípica. Revisión de la literatura. Actas urológicas españolas julio/agosto 2005. Dra. Pérez fuentes, M Blanco Parra, V. Toucedo Caamaño, J. Lema Grille

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 227

### EFICACIA ENTRE BIOPSIA DE TESTÍCULO CONGELADA Y FRESCA EN REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: Jessica Alonso Lorite, Irene de Lucas Aguado, Jesus Fernandez Sanz, David Agudo Garcillán, Fernando Bronet Campos, Carmen Bou Sepúlveda,

Centro de trabajo: IVI MADRID

Provincia: MADRID

Correo electrónico del primer firmante: jessica.alonso@ivi.es

#### Introducción:

La biopsia de testículo (BXT) es una intervención quirúrgica que consiste en la extracción de una pequeña parte de pulpa testicular haciendo una incisión en el escroto bajo anestesia local.

El tejido es procesado in situ en el laboratorio donde se verificará la presencia de espermatozoides. Se podrá utilizar para tratamientos de fecundación en ese mismo momento (BXT fresca) o se podrá congelar para un futuro ciclo.

La biopsia esta indicada en pacientes azoospermicos (ausencia de espermatozoides en el eyaculado), donde podremos comprobar si la azoospermia es secretora (no produce gametos) u obstructiva (via seminal obstruida) y en pacientes con necrozoospermia o en casos de dificultad en recoger la muestra el día de la punción.

Nuestro objetivo es valorar si se obtienen mejores resultados con biopsia de testículo congelada o con fresca al realizar un ciclo de reproducción asistida.

#### Material y Métodos:

Estudio retrospectivo realizado sobre 197 pacientes que se realizaron BXT entre enero 2010 y diciembre 2011 en IVI Madrid.

Dentro de cada grupo analizamos los siguientes subgrupos:

- Grupo 1: vasectomías.
- Grupo 2: azoospermias.
- Grupo 3: sémenes con escasa concentración de espermatozoides.
- Grupo 4: sémenes con cultivos positivos, fragmentación alterada, aneyaculación y eyaculación retrógrada.

#### Resultados:

De los 197 pacientes que fueron sometidos a biopsia, observamos los siguientes resultados:

	BIOPSIA FRESCA			BIOPSIA CONGELADA		
	%TG	%TI	P	%TG	%TI	P
GRUPO 1	41,7	31,6	NS	29,6	29	NS
GRUPO 2	25	33,3	NS	24,2	25,3	NS

GRUPO 3	33,3	35,7	NS	0	0	NS
GRUPO 4	30,8	22,2	NS	20	28,6	NS

NS: no significativo

#### Conclusiones:

Los resultados obtenidos demuestran una diferencia a favor de la biopsia de testículo en fresco aunque no es significativa. Por lo que se recomienda tener más casos para comprobar si existe esta diferencia significativa.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 234

### TUMORES NEUROENDOCRINOS APENDICULARES

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: Olga Rodríguez Santiago, Agustina Romero Gallego, Teresa Amigo Fernández, M<sup>a</sup> Luisa Prieto Puente, Clementina Ballesteros López, Rubén López Aguado y Felipa Cecilio Ramos.

Centro de trabajo: Complejo Asistencia "Virgen de la Concha"

Provincia: Zamora

Correo electrónico del primer firmante: kasasola12@yahoo.com

#### Introducción:

Los tumores neuroendocrinos gastroenteropancreáticos comprenden los tumores originados a partir del sistema neuroendocrino gastrointestinal junto con los originados en los islotes pancreáticos.

Los tumores neuroendocrinos de apéndice cecal son infrecuentes constituyendo entre el 0,5% y el 1% de las neoplasias intestinales.

Se estima una incidencia entre 0,3% y 0,9% en piezas de apendicectomías y la localización más frecuente es en la parte distal apendicular; siendo más frecuentes en mujeres entre la segunda y cuarta década de la vida.

#### Objetivos:

Analizar la prevalencia de los tumores neuroendocrinos apendiculares en el año 2011 en el Complejo Asistencial de Zamora.

Comparar y diferenciar estos tumores con la clasificación de la OMS (Organización Mundial de la Salud) 2000 y 2011 basándonos en el índice de proliferación Ki 67

#### Material:

El estudio fue realizado en 230 apendicectomías realizadas en el año 2011 en el Complejo Asistencial de Zamora para valorar la prevalencia de tumores neuroendocrinos apendiculares.

Se revisan los informes de Anatomía Patológica así como las laminillas y técnicas de inmunohistoquímica para aplicar la clasificación de la OMS (Organización Mundial de la Salud) del 2000 y 2010 en nuestros casos.

#### Métodos:

Las muestras de apéndice cecal han sido fijadas en formol tamponado al 10% e incluidas en parafina, cortes histológicos a 3 micras. Se realiza la técnica de inmunohistoquímica con el marcador Ki 67 en el sistema automatizado de Benchmark.

#### Resultados:

De los 230 casos analizados en este Complejo Asistencial han resultado como positivos tres casos en edades comprendidas entre 27 y 43 años, todos de sexo femenino.

El porcentaje resultante ha sido del 0,76% encontrándose dentro de la incidencia estimada.

Aplicando la clasificación de la OMS (Organización Mundial de la Salud) del año 2000 dos de los tumores son clasificados como tumores endocrinos bien diferenciados de comportamiento benigno y el otro tumor como carcinoma endocrino bien diferenciado.

Aplicando la clasificación de la OMS (Organización Mundial de la Salud) del año 2010 de los tres tumores son clasificados como tumores neuroendocrinos.

#### Conclusiones:

- La prevalencia de tumores neuroendocrinos en el Complejo Asistencial de Zamora durante el año 2011 ha sido del 0,76% similar a lo descrito en la literatura (entre 0,3% y 0,9%).

- Los tres casos se han dado en mujeres de edades comprendidas entre 27 y 43 años (similar a lo descrito en la literatura).

- Al aplicar las clasificaciones de la Organización Mundial de la Salud 2000 y 2010, vemos que tumores que estaban clasificados como carcinoides (de comportamiento benigno) pasan a clasificarse como carcinomas endocrinos bien diferenciados.

**DETERMINACIÓN DEL GEN HER2 EN EL CARCINOMA GÁSTRICO EN EL SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA DEL COMPLEJO ASISTENCIAL UNIVERSITARIO DE BURGOS***Trabajo de: Anatomía Patológica**Autor/a/s:* Rebeca de la Fuente Díez, Susana Santamaría Contreras, Dr. Maximiliano Rodrigo Gómez de la Barcena, Dr. Pedro Llano Varela, Felisa Pedreguera García, Ana Rosa Heras García*Centro de trabajo:* COMPLEJO ASISTENCIAL UNIVERSITARIO DE BURGOS*Provincia:* Burgos*Correo electrónico del primer firmante:* rebecadelafuentegarcia@gmail.com**Introducción:**

El oncogén HER2/neu o c-erbB2 está localizado en el cromosoma 17 y codifica una proteína de 185-kDa que pertenece a la familia del receptor del factor de crecimiento epidérmico humano con actividad tirosin-quinasa. Esta proteína, HER2, actúa como receptor en la superficie de la célula. Mediante diferentes alteraciones moleculares se origina una sobreexpresión de ésta en la célula tumoral desencadenando: un incremento en la proliferación celular, una mayor supervivencia celular por evasión de la apoptosis, una pérdida del control del ciclo celular, una mayor desdiferenciación y un aumento de la migración celular.

Tras la publicación del ensayo TOGA se ha demostrado que el cáncer gástrico posee unas tasas de entre el 15 al 25% de sobreexpresión y amplificación del gen, similares al carcinoma de mama que fue el primer tumor donde se describió.

La valoración del estado de HER2/neu es esencial como diana molecular para el empleo de una terapia con Trastuzumab (Herceptin); éste, es el primer anticuerpo monoclonal humanizado dirigido contra el dominio extracelular de HER2, tanto en monoterapia como en combinación con otros agentes citotóxicos en el tratamiento del cáncer gástrico consiguiendo aumentar la supervivencia en torno a 2.8 meses.

**Objetivos:**

Determinar entre los pacientes con cáncer gástrico que llegan al servicio de anatomía, aquellos que puedan beneficiarse de un tratamiento con Trastuzumab como primera terapia biológica.

**Material y Métodos:**

Desde mayo del 2010 hasta noviembre del 2011 se estudian un total de 52 pacientes diagnosticados de adenocarcinoma gástrico.

Para la valoración del estado del HER2/neu en dichos pacientes realizamos dos técnicas paralelas: una determinación inmunohistoquímica con 4B5 (Ventana, Roche) para el análisis de la expresión proteica y una hibridación in situ con contraste de plata (SISH) para la amplificación génica, mediante el análisis de Ventana INFORM HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail, de Roche.

**Resultados:**

Se obtuvo un resultado negativo (0+) para 4B5 en 35 de los 52 casos. 6 casos fueron indeterminados (++) y 11 positivos (+++) representando el 21.1%. De los 35 casos negativos ha amplificado uno, obtenido así un falso negativo.

De los 6 casos indeterminados (++) sólo han amplificado 3 y de los 11 positivos (+++) han amplificado todos menos 1, obteniendo así un falso positivo. 14 casos amplificados-25%

4B5	CASOS	AMPLIFICADOS SISH POSITIVO	ERRORES
0+ (negativo)	35	1	Falso negativo
++ (indeterminado)	6	3	
+++ (positivo)	11	10	Falso positivo
<b>Nº TOTAL</b>	<b>52</b>	<b>14</b>	<b>2</b>

**Conclusiones:**

Nuestros resultados se asemejan a los recogidos en la literatura y demuestran la necesidad de combinar el estudio inmunohistoquímico y la hibridación in situ para poder hacer una correcta selección de pacientes susceptibles de recibir Trastuzumab.

**COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ADN: QIAGEN Y COBAS***Trabajo de: Anatomía Patológica**Autor/a/s:* Paula Vieiro Balo, María Dolores Viña Vilanova, Patricia Viaño Núñez, Raquel

Pérez-Becerra Ferreiro, María Elena Couso Folgueiras, Orlando Fernández Lago, Máximo Francisco Fraga Rodríguez

*Centro de trabajo:* Biobanco Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela*Provincia:* A Coruña*Correo electrónico del primer firmante:* Paula.Vieiro.Balo@sergas.es**Introducción:**

A lo largo de los años han ido apareciendo nuevos métodos de extracción de material genético, que han permitido avanzar en el estudio y diagnóstico de algunas enfermedades. A la hora de realizar estudios de biología molecular, siempre es importante preservar la mayor cantidad de tejido posible, tras realizar dichos estudios, para no impedir la realización posterior de otras técnicas. Esto es especialmente importante en los casos en que el material tisular es escaso, como por ejemplo muestras endoscópicas. Por tanto, es esencial contar con un método de extracción lo más eficiente posible. Existen métodos de extracción diferentes, pero en este estudio nos hemos centrado en dos de ellos.

**Objetivos:**

Establecer una comparativa entre dos métodos de extracción de ADN basados en sistemas de columnas: QIAGEN (QIAamp DNA Micro kit) y COBAS (Roche DNA Sample Preparation kit).

**Material y Métodos:**

Hemos estudiado un total de 49 casos, de los cuales 37 son biopsias en parafina, 4 cristales de citología, 5 cristales de microdissección y 3 bloques celulares.

De todos ellos se ha extraído ADN siguiendo el protocolo de la casa comercial (QIAGEN-ROCHE) para cada uno de los kits. En ambos métodos se realizan los siguientes pasos: desparafinación, deshidratación, lisis celular, incubación con Proteinasa K, precipitación, lavados y elución. Una vez extraído el ADN se realizan las mediciones en el NANODROP 1000 (Termo Scientific), para valorar la concentración y pureza del mismo.

**Resultados:**

Con QIAGEN 23 de los casos (47%) son superiores a los 50ng/µl de concentración considerada óptima para la extracción y 26 casos (53%) son inferiores a la misma. Con COBAS 48 de los casos son superiores a la concentración recomendada, que en este caso son 2ng/µl (98%), mientras que tan sólo un caso (2%) es inferior. Analizando estos resultados podemos deducir que casi el 100% de los casos analizados con el método COBAS superan la concentración recomendada para realizar una buena extracción de ADN. Sin embargo se diferencian en la cantidad de material utilizado y en el tiempo de incubación del mismo: COBAS necesita entre 1 y 3 cortes de 5 micras en función del tamaño de las muestras; en cambio, QIAGEN necesita más material de partida, entre 8 y 10 cortes de 10 micras; además la lisis celular y la incubación con Proteinasa K se realizan toda la noche y 2 horas respectivamente.

**Conclusiones:**

El método COBAS ofrece mayores ventajas que el método QIAGEN, ya que se utiliza menor cantidad de tejido, menor tiempo de incubación de las muestras y por lo tanto se reduce del tiempo de elaboración de la técnica, con lo que se puede agilizar el diagnóstico y tratamiento requerido para cada uno de los pacientes.

**LOS MACROBLOQUES COMO RUTINA DE TRABAJO EN ANATOMÍA PATOLÓGICA***Trabajo de: Anatomía Patológica**Autor/a/s:* (FELIX MIGUEL MATILLA MATILLA, M<sup>a</sup> LUZ BALTASAR MOREIRA, EMILIANO HONRADO FRANCO, ANA CUESTA DÍAZ DE RADA)*Centro de trabajo:* (COMPLEJO ASISTENCIAL UNIVERSITARIO DE LEÓN)*Provincia:* LEÓN*Correo electrónico del primer firmante:* (felixmatilla68@hotmail.com)**Introducción:**

Los macrobloques se utilizan para piezas grandes de tejidos, con la finalidad de no romper su estructura en fragmentos y poder visualizar la pieza en un solo conjunto.

En nuestro servicio se utilizan mayoritariamente para próstatas y en menor medida para piel, colon, laringe o pene.

**Objetivos:**

Analizar ventajas e inconvenientes de los macrobloques en nuestro servicio.

**MATERIAL:**

Desde el año 2010 hasta el 2011 hemos realizado aproximadamente unos 1000 macrobloques en el servicio de anatomía patológica del hospital de León. De los cuales 160 casos son prostatectomías radicales, 13 de pieles, 2 de colon, 2 de laringe y 1 de pene.

## MÉTODOS:

- Fijar en formol al 10% durante 24 h.
- Tallar con cuchillo y colocar en los macrocassettes.
- Procesar automáticamente.
- Incluir en los macromoldes de plástico quedando la pieza bien alineada, para facilitar el corte.
- Cortar en el microtomo con el cabezal adaptado para macrobloques.
- Colocar los cortes en los macroportaobjetos y cestillas adaptadas.
- Teñir con Hematoxilina-eosina.
- Montar con los macrocubreobjetos.
- Observar al microscopio óptico.
- A partir de los macrobloques también se puede realizar técnicas histoquímicas e inmunohistoquímicas para ello el patólogo selecciona la zona, se marca con la aguja histológica y se coloca en un portaobjetos normal.

## Resultados:

Macropreparaciones donde se visualiza toda la estructura histológica, conservando los márgenes quirúrgicos y una buena orientación topográfica.

## Conclusiones:

Nuestra experiencia con los macrobloques es buena con las prostatectomías y pieles pero no tan óptima en otros órganos debido a un mayor contenido de tejido adiposo.

El tiempo del tallado de las piezas es más rápido que haciéndolo de la forma tradicional.

El tiempo de la realización y corte de los bloques es mayor que un bloque normal pero se compensa porque se reduce el número de estos.

Los inconvenientes es que se requiere una mayor destreza técnica y las preparaciones hay que montarlas manualmente, ya que el tamaño de los macrocassetes, macromoldes, portaobjetos y cubreobjetos es de 4 o 5 veces aproximadamente mayor que los convencionales.

También se necesita un desembolso inicial para empezar la técnica y en comparación de la biopsia rutinaria el coste es unas tres veces superior, que el formato estándar. El almacenaje es un inconveniente, ya que es necesario más espacio y archivos especiales.

Las ventajas es que agiliza el trabajo de los patólogos.

El diagnóstico clínico es más certero para el paciente al no perder restos de tejido histológico alguno.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 257**

## FACTORES PREDICTIVOS DE EVOLUCIÓN EN ADENOCARCINOMA COLORRECTAL TRAS RESECCIÓN ENDOSCÓPICA DE LA LESIÓN.

*Trabajo de: Anatomía Patológica*

*Autor/a/s:* María Luisa López Vega, M<sup>a</sup> Sagrario Rodríguez Meiriño, M<sup>a</sup> Belen Trujillo Quiroga, M<sup>a</sup> Dolores Arias Santos, M<sup>a</sup> del Carmen Penín Corderí, Joaquin Cubiella Fernandez

*Centro de trabajo:* C.H.U.OURENSE

*Provincia:* Ourense

*Correo electrónico del primer firmante:* mlopveg@sergas.es

## Introducción:

El carcinoma colorrectal (CCR) es altamente prevalente en nuestro medio. La polipectomía endoscópica se utiliza en fases iniciales de su tratamiento. Este estudio profundiza en los criterios pronósticos basándose en la histología y en la expresión de diferentes moléculas relacionadas con el proceso tumoral mediante inmunohistoquímica. Se pretende abrir una nueva vía de investigación para ser aplicada en el tratamiento de los pacientes.

## Objetivos:

- 1-Estudiar la relación de marcadores inmunohistoquímicos con las variables clínicas y patológicas
- 2-Analizar la densidad microvascular intratumoral Hematoxilina-Eosina(HE),CD34 y factor proangiogénico(COX-2)
- 3-Establecer el grado de inmunoreactividad de  $\beta$ -Catenin, CD44, Laminina-5, Matrix Metalloproteinase 9(MMP-9)
- 4-Determinar la frecuencia de inmunopositividad para Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) y Ciclooxygenasa 2 (COX-2)

## Material y Métodos:

Se trata de un estudio retrospectivo observacional en el que se incluyeron los individuos con pólipo maligno resecado entre los años 1999 y 2009. Tras la obtención del consentimiento

informado, los datos clínicos y del bloque histológico, se realizaron 10 cortes histológicos a 2,5µ de grosor, teñiéndose el primero y último con HE (teñidor-montador automático). Se determinó mediante inmunohistoquímica la expresión de CD34, CD44, MMP-9, VEGF,  $\beta$ -Catenin, Laminina-5 y COX-2, con el sistema DAKO (Autostainer Plus Link) para su tinción y el pre-tratamiento con el modulo (PT Link). Las concentraciones de los distintos anticuerpos y los tiempos de incubación siguen las recomendaciones del fabricante. La valoración de los anticuerpos es acorde a la bibliografía científica, utilizando controles positivos y negativos.

## Resultados:

En el período analizado se reseccionaron endoscópicamente 151 pólipos malignos, de otros tantos pacientes. En la histología convencional, el 74.8% eran bien diferenciados, se detectó infiltración del borde en el 13.6% e invasión linfovascular en el 6.8%, cumpliendo los criterios de alto riesgo el 32.1%. La densidad microvascular está significativamente incrementada en relación con mucosa normal. La expresión inmunohistoquímica fue positiva para CD44 (63.3%), MMP-9 (25.3%), VEGF (45%),  $\beta$ -Catenin (38.8%), Laminina-5 (79%) y COX-2 (34.5%).

## Conclusiones:

En los últimos años se han descrito diversos marcadores moleculares que implican mayor riesgo en la progresión del cáncer. El propósito de nuestro estudio es describir las alteraciones detectadas (histológicas e inmunohistoquímicas). Determinamos el patrón de expresión inmunohistoquímica con diversos anticuerpos en adenocarcinomas invasivos sobre adenomas resecados mediante endoscopia.

## Nota:

El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia (código 2008/250) y financiado por la Consellería de Sanidade de la Xunta de Galicia (P508/06).

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 260**

## METÁSTASIS PULMONARES DE TUMOR DE ORIGEN SACRO

*Trabajo de: Anatomía Patológica*

*Autor/a/s:* María Luisa López Vega, María Sagrario Rodríguez Meiriño y María del Carmen Penín Corderí.

*Centro de trabajo:* C.H.U.OURENSE

*Provincia:* OURENSE

*Correo electrónico del primer firmante:* mlopveg@sergas.es

## Introducción:

Los cordomas son tumores disontogénicos relativamente raros, constituyendo del 1 al 4 % de los tumores óseos. Se desarrollan de un remanente de la notocorda primitiva y crecen principalmente en las porciones superiores e inferiores de la columna vertebral (región esfenoccipital y sacro). La mayoría se desarrollan entre la 5-6ta década de la vida, siendo más frecuentes en el sexo masculino, con una proporción de 2:1. Se caracterizan por su lento crecimiento y su tendencia a recurrir localmente tras la extirpación. Ha sido reportado que un 43% de los pacientes desarrollan enfermedad metastásica en huesos, pulmones, ganglios, piel y tejido celular subcutáneo.

## Presentación del Caso:

Paciente varón de 64 años intervenido de cordoma sacro en varias ocasiones:

- Octubre de 2004: Resección subtotal de tumoración sacrococcigea, compatible con cordoma.
- Octubre de 2007: Resección tras recidiva local.
- Febrero de 2008: Amputación abdómino-perineal + sacrectomía en bloque: Cordoma sacro que infiltra tejido óseo y partes blandas. Mide 8 cm.

En la actualidad, es remitido por empeoramiento radiológico con posible recidiva a nivel pélvico, existiendo masas en el músculo obturador interno izquierdo y adenopatía patológica ilíaca izquierda. Muestra también aparición de lesiones pulmonares bilaterales compatibles con metástasis. El paciente se encuentra asintomático. Se realiza PAAF bajo control con TAC de los nódulos pulmonares.

## Objetivos:

- 1-Estudiar de forma simple, incruenta, rápida y sensible la naturaleza de las lesiones.
- 2-Realizar un bloque celular de calidad con los restos tisulares obtenidos mediante PAAF que nos permite profundizar en el diagnóstico.
- 3-Analizar de forma fiable la inmunoreactividad de las células tumorales con los anticuerpos para filiar el origen de la lesión.

## Material y Métodos:

Punción Aspiración con Aguja Fina bajo control con TAC. Se obtienen 1 extendido citológico que se tiñe con Papanicolaou, una muestra de citología líquida que se procesa mediante THYN-PREP para su tinción con Hematoxilina-Eosina (H-E) y material de citología

sólida que se incluye en parafina y se procesa mediante técnica histológica de rutina (H-E) para microscopía óptica. Posteriormente se determina estudio inmunohistoquímico con Cytoqueratina AE1-AE3, EMA (Antígeno Epitelial de Membrana), S-100, E-Caderherina, Vimentina, Ki-67(MIB-1) y CEA (Antígeno Carcinoembrionario) y técnicas histoquímicas de PAS, PAS-Diastasa y Azul-Alcian.

#### Resultados:

El estudio mostró positividad para las técnicas histoquímicas de PAS y Azul-Alcian e inmunorreactividad para Vimentina, Cytoqueratina, EMA y sólo en un 10% de Proteína S-100. El índice de proliferación celular (Ki 67) menor del 5%. Diagnóstico: METÁSTASIS DE CORDOMA.

#### Conclusión:

Los cordomas son lesiones histológicas de bajo grado de malignidad aunque, han sido publicadas variantes agresivas con metastásis diseminadas. La citología e histología del cordoma está constituida clásicamente por células claras con vacuolas en el citoplasma, dispuestas en un patrón lobular (células fisalíferas), que son positivas con las tinciones de paramucopolisacáridos. Algunos cordomas muestran áreas anaplásicas, como en nuestro caso.

#### Bibliografía:

O13 Hara BJ, Partau A, Miettinen M. Keratin subsets and monoclonal antibody HBME-1 in chordoma, immunohistochemical differential diagnosis between tumors simulating chordoma. Hum Pathol. 29 (2): 119-126,1998.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 269

### “ESTUDIO DE LA NEUROGÉNESIS ADULTA EN EL MODELO DE ALZHEIMER SAMP8”

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: García-Bermudez, Edurne; Díaz-Moreno, María; Moreno-Estelles, Mireia; Hortiguëla, Rafael; González-Gómez, Pilar; San Emeterio, Juana; Mira, Helena.

Centro de trabajo: Instituto de Salud Carlos III

Provincia: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: ebermudez@isciii.es

#### Introducción:

En los mamíferos adultos, las células madre neurales (NSC) son la fuente de neurogénesis adulta en distintas regiones del cerebro, tales como la zona subventricular de los ventrículos laterales (SEZ), que contribuye nuevas neuronas a los bulbos olfatorios (OB). La neurogénesis dentro de estas áreas es necesaria para el remplazo de células tanto después de la muerte natural como en condiciones patológicas. Sin embargo, la neurogénesis adulta disminuye considerablemente con el aumento de la edad, mientras que la causa que subyace a esta reducción neurogénica aún está por determinar. La edad es el principal factor de riesgo para la enfermedad de Alzheimer (AD), pero en los estudios realizados en los modelos de ratón existen discrepancias sobre el impacto de la enfermedad en la neurogénesis adulta.

#### Objetivos:

El objetivo de este estudio ha sido analizar la neurogénesis a distintas edades, en el modelo murino de senescencia acelerada SAMP8, así como en su cepa control resistente a la senescencia, SAMR1. Esta propuesta se basa en la presencia de síntomas neuropatológicos relacionados con la AD en los ratones SAMP8 que hacen de esta cepa un modelo útil para estudiar la demencia relacionada con dicha enfermedad.

#### Material y Métodos:

Se ha analizado la neurogénesis en el OB mediante estudios histológicos por tinción con Hematoxilina Eosina (Hx-Eo) para observar posibles diferencias estructurales y de tamaño en ambas cepas. Además se ha realizado un seguimiento de pesaje en fresco de dichas estructuras, así como se ha cuantificado el número de células en proliferación activa mediante marcaje por BrdU.

#### Resultados:

Nuestros hallazgos sugieren que los OB de los animales SAMP8 son significativamente más pequeños que los de los SAMR1 tanto a 2 como a 10 meses, observándose un menor peso total, así como un área por corte más reducida en los animales SAMP8. Sin embargo, el área ocupada por la estructura interna de los OB en los SAMP8 a 2 meses muestra un incremento en el tamaño respecto a los SAMR1. Estos resultados, concuerdan con un aumento en el número de células proliferantes en el OB de SAMP8 observable a 2 meses y una disminución proliferativa a los 10 meses con respecto a la cepa control.

#### Conclusiones:

Estudios futuros podrán determinar si dicho pico neurogénico en los ratones SAMP8 es un mecanismo compensatorio en respuesta a daño patológico asociado a la enfermedad de Alzheimer.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 270

### PAPEL DEL RECEPTOR BMPRIA EN LA REGULACIÓN DE LAS CÉLULAS MADRE DEL CEREBRO ADULTO

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: Hortiguëla, Rafael; Moreno-Estelles, Mireia; Díaz-Moreno, María; García-Bermudez, Edurne; San Emeterio, Juana; Gonzalez-Gomez, Pilar; Mira, Helena.

Centro de trabajo: Instituto de Salud Carlos III

Provincia: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: rhortiguëla@isciii.es

#### Introducción:

Hasta hace relativamente pocos años se pensaba que el sistema nervioso central de los mamíferos carecía de capacidad regenerativa en la etapa adulta, pero algunos estudios han desmentido esta idea y han demostrado que existen al menos dos regiones cerebrales en las que persiste la proliferación y diferenciación de nuevas células nerviosas (neuronas, astrocitos y oligodendrocitos) durante toda la vida del individuo. Estas dos regiones o nichos, que contienen células madre neurales (NSCs, del inglés Neural Stem Cells), son el giro dentado del hipocampo y la zona subependimal o subventricular adyacente a las paredes de los ventrículos laterales (siglas en inglés SEZ o SVZ).

La regulación de las NSCs en los nichos viene marcada por señales propias de nicho como son las BMPs (del inglés Bone Morphogenetic Proteins). Estas moléculas pertenecen a la superfamilia del TGF- $\beta$  y producen efectos muy importantes en el sistema nervioso embrionario (como la dorso-ventralización del tubo neural, la determinación de la cresta neural, el control de la neurogénesis y la gliogénesis, etc). En el cerebro adulto se ha postulado que las BMPs ejercen un papel central en la modulación de las funciones de las NSCs.

#### Objetivo:

Determinar la función del receptor para BMPs tipo 1a (BMPRI-A) en la regulación de la quiescencia y proliferación de las NSCs en la zona subventricular del cerebro adulto.

#### Materiales y métodos:

Para ello se usó como modelo animal una cepa de ratón transgénico que presenta delección de uno de los alelos del receptor Bmpr1a.

Se utilizaron inyecciones in vivo de bromodesoxiuridina (BrdU, un análogo de timidina que marca las células en división) y posterior inmunohistoquímica de la zona en estudio, analizándose las diferencias entre animales salvajes (Bmpr1a<sup>+/+</sup>) y animales deficientes en el receptor (Bmpr1a<sup>-/-</sup>) de diferentes edades.

Se emplearon cultivos celulares de la zona subventricular, aislados a partir de una microdissección del cerebro (cultivos primarios de NSCs), estudiándose efecto de la presencia y ausencia de ligandos de la familia de las BMPs sobre las células madre.

#### Resultados:

Tanto los cultivos celulares de animales salvajes como los de animales deficientes en el receptor responden al tratamiento con BMPs y presentan un menor crecimiento de neuroesferas. En presencia de ligando, el efecto es mayor en los animales salvajes.

Los recuentos de células BrdU+ en cortes de cerebro de animales tanto salvajes como deficientes en el receptor no muestran diferencias significativas.

#### Conclusión:

Las proteínas BMPs y el receptor BMPRI-A regulan la proliferación in vitro de las NSCs de la zona subventricular del cerebro adulto.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 272

### ESTUDIO INMUNOHISTOQUIMICO DE PROTEINAS REPARADORAS DEL DNA EN CARCINOMA DE COLON: EXPERIENCIA EN 199 CASOS DURANTE EL AÑO 2011

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: (ROSARIO TURIEL VICENTE, ENGRACIA SANTÍN PIEDRAFITA, LOURDES RODRÍGUEZ CASADO, ANA LUISA ALONSO MONJE, M<sup>a</sup> LUZ BALTASAR MOREIRA, MATILDE LOPEZ GARCÍA, PAZ CASTRO VAL, JOSÉ MARÍA GONZÁLEZ HERBÓN, CONCEPCIÓN ALVÁREZ CAÑAS, MERCEDES HERNANDO MARTÍN)

Centro de trabajo: (COMPLEJO ASISTENCIAL UNIVERSITARIO DE LEÓN)

Provincia: LEÓN

Correo electrónico del primer firmante: charouriel@hotmail.com

#### Introducción:

El carcinoma colorrectal es la segunda causa de muerte por cáncer en hombres y mujeres en nuestro medio. La mayoría (85%) presentan activación de oncogenes e inhibición de genes

supresores (vía supresora) pero el 15% tienen alteraciones en el sistema de reparación de errores durante la replicación del ADN controlado por los genes MMR (vía reparadora) y son tumores con inestabilidad de microsatélites. A su vez, la mayoría son esporádicos (10-12%) pero el resto (3-5%) se desarrolla en pacientes con carcinoma colorrectal hereditario no polipósico (CCHNP) o Síndrome de Lynch. Para identificar a estos pacientes hemos realizado el estudio inmunohistoquímico de las proteínas reparadoras MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2 que forman complejos heterodímeros (MLH1-PMS2 y MSH2-MSH6). Su ausencia significa tumor con alteración en la vía reparadora (tumores MMR+). La pérdida de expresión de MLH1 sin criterios de Bethesda revisados o Amsterdam II o con mutación en BRAF indica tumor esporádico. Si hay pérdida de expresión de MSH6-MSH2 (asociadas o no) y PMS2 no asociados a MLH1 hay que buscar mutaciones germinales para confirmar Síndrome de Lynch.

#### Objetivos:

Demostrar la presencia o ausencia de expresión de las proteínas reparadoras (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) mediante inmunohistoquímica en los carcinomas de colon.

#### Material:

Durante el año 2011 en el complejo asistencial universitario de León se han diagnosticado 199 casos de carcinoma de colon.

#### Métodos:

Estudio morfológico: H-E.

Estudio inmunohistoquímico de las proteínas reparadoras MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2. Su interpretación se expresa como presencia o ausencia de expresión o no valorable si no se obtienen controles internos adecuados.

#### Resultados:

	MLH1	MSH2	MSH6	PMS2*
<b>PRESENCIA</b>	188	197	195	120
<b>AUSENCIA</b>	11	2	4	14
<b>NO VALORABLE</b>	0	0	0	2

\* Esta proteína se introdujo en nuestro servicio más tarde.

En los 7 casos con pérdidas de MSH2-MSH6 o aisladas de PMS2 y MSH6 se indicó la realización de análisis germinal para la búsqueda de mutaciones.

En los 11 casos con ausencia de MLH1 (asociado o no a ausencia de PMS2) se indicó investigar criterios de Bethesda revisados o Amsterdam II, ya que, si no los cumplen serían esporádicos. Estos tumores también tienen la mutación V600E en el gen BRAF que no pudimos realizar por no disponer de la técnica.

#### Conclusiones:

La inmunohistoquímica es una técnica sencilla, barata, rutinaria y con alta sensibilidad y especificidad.

En nuestra casuística un 9% presentan ausencia de proteínas reparadoras y, por lo tanto, son tumores con inestabilidad de microsatélites. De estos, 5,5% son esporádicos y 3,5% son Síndrome de Lynch. Representando un porcentaje inferior a lo descrito en la literatura científica, aunque en España hay estudios con pérdida de expresión en un 6,5%.

Los tumores con inestabilidad de microsatélites tienen mejor pronóstico pero no se benefician de los tratamientos quimioterápicos basados en 5-fluorouracilo.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 278

### MODELO DE CÁNCER DE COLON CON CÉLULAS DERIVADAS DE PACIENTE

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: CHICOTE RAMOS, IRENE

Centro de trabajo: VALL D'HEBRON INSTITUT DE ONCOLOGIA (VHIO)

Provincia: BARCELONA

Correo electrónico del primer firmante: ichicote3@gmail.com

#### Introducción:

El cáncer colorrectal es la segunda causa más común de muerte por cáncer.

Aunque la extirpación quirúrgica seguirá siendo, probablemente, el tratamiento definitivo para la mayoría de enfermedades colorrectales, un mejor conocimiento de la biología y la progresión tumoral ayudaría a la selección más adecuada de tratamientos anti-tumorales.

#### Objetivos:

Establecer un modelo de cáncer colorrectal en ratón a partir de células tumorales derivadas de pacientes que reproduzca las características fundamentales de la enfermedad humana.

#### Material y Métodos:

Obtendremos tejido extirpado quirúrgicamente de pacientes que no hayan sido sometidos a ningún tipo de tratamiento (quimioterapia o quimiorradioterapia).

De cada paciente recogeremos tejido sano (mucosa intestinal adyacente) y tejido anormal (adenoma o carcinoma) para lo cual hemos establecido un circuito de trabajo que incluye cirujanos, patólogos y oncólogos.

Los miembros del laboratorio, una vez recogido el tejido tras la cirugía, realizamos un protocolo de aislamiento de células vivas a través de distintos procesos de digestión enzimática, filtraciones y lavados.

Una parte de las células resultantes se congela y formará parte de la colección de células tumorales derivadas de pacientes generada en el laboratorio.

La otra parte se inyecta subcutáneamente en ratones inmunodeprimidos (NOD-SCID) con el fin de producir tumores que conservan las características histopatológicas del tumor original del paciente.

#### Resultados:

Hasta el momento, han llegado 32 muestras al laboratorio de las cuales hemos conseguido que 27 crezcan satisfactoriamente en ratones.

Las células purificadas de los tumores xenotrasplantados en ratón preservan la capacidad de reiniciar tumores al ser inyectadas de forma seriada en generaciones consecutivas de ratones NOD-SCID. El análisis histológico de los tumores desarrollados en el ratón muestra que se reproduce perfectamente la estructura celular del tumor original.

#### Conclusiones:

La preservación del potencial de iniciar tumores y la recapitulación de la histopatología original del paciente indican que las células purificadas se comportan como células madre tumorales.

Los xenotrasplantes en ratón nos permiten estudiar funcionalmente la biología de carcinoma colorrectal de cada paciente particular, abriendo una gran oportunidad para la medicina personalizada. Actualmente se está estudiando en este modelo de cáncer de colon la respuesta a fármacos anti-tumorales que bloquean específicamente ciertas dianas moleculares.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 295

### ESPECTRO DE LESIÓN CITOLÓGICA EN HPV DE ALTO Y BAJO RIESGO ONCOLÓGICO

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: ANA LUISA ALONSO MONJE, MAXIMINA PÉREZ GONZÁLEZ, PAZ CASTRO VAL, ENGRACIA SANTIN PIEDRAFITA, ROSARIO TURIÉL VICENTE, JOSÉ MARÍA GONZÁLEZ HERBÓN, M<sup>a</sup> LUZ BALTASAR MOREIRA, LOURDES RODRIGUEZ CASADO, GONZALO LAGE VÁZQUEZ, JOSÉ SANTOS SALAS VALIEN

Centro de trabajo: COMPLEJO ASISTENCIAL UNIVERSITARIO DE LEÓN

Provincia: LEON

Correo electrónico del primer firmante: anamonje30@hotmail.com

#### Introducción:

Las anomalías escamosas no invasoras del epitelio cervical asociadas al virus del papiloma humano (HPV), incluye desde cambios celulares asociados a la infección transitoria por HPV, hasta cambios celulares anómalos que representan precursores de alto grado hacia el carcinoma invasor de células escamosas. Según el sistema Bethesda las lesiones se agrupan en bajo grado (L-SIL), alto grado (H-SIL) y células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US).

Existen más de 100 tipos de HPV descritos de los cuales, unos 50 afectan a la mucosa genital. Estos virus se han clasificado en bajo riesgo oncogénico y alto riesgo oncogénico dependiendo de su especificidad para producir lesiones malignas.

#### Objetivos:

Correlacionar, en nuestro hospital, la distribución de lesiones citológicas en las pacientes con virus de alto y bajo riesgo oncogénico, estratificado por edades.

#### Material:

Durante el primer trimestre del año 2011 hemos estudiado en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital de León 642 citologías ginecológicas con detección del HPV, procedentes de lesiones displásicas de novo o del seguimiento de lesiones ya diagnosticadas.

#### Métodos:

Screening citológico y detección con tipificación de HPV (Clinical Array Processor®).

#### Resultados:

DIAGNOSTICO CITOLÓGICO	CASOS	DETECCIÓN DE HPV	CASOS
NEGATIVAS	488	PCR (-)	396
BAJO GRADO (L-SIL)	119	PCR BAJO RIESGO ONCOGÉNICO	16

ALTO GRADO (H-SIL)	20	PCR ALTO RIESGO ONCOGÉNICO	230
ASC-US	15		

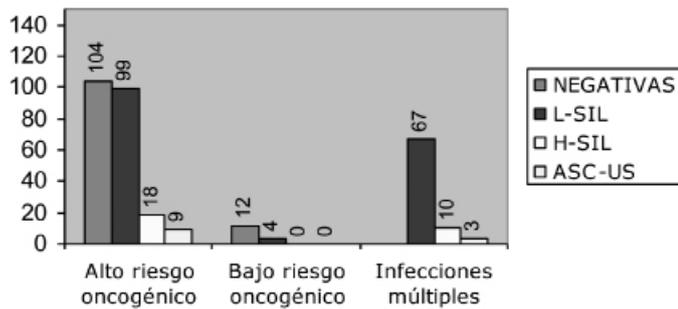


Fig.-1.: Distribución del diagnóstico citológico por riesgo oncogénico

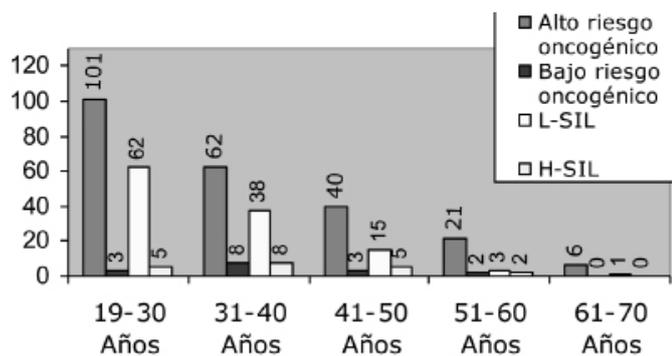


Fig.-2.: Distribución por edades del HPV según su riesgo oncogénico y diagnóstico citológico (bajo y alto grado).

De los 386 casos con PCR (-), 372 tenían citología negativa, 16 se diagnosticaron de L-SIL, 2 de H-SIL y 6 de ASC-US.

#### Conclusiones:

En el periodo de tiempo estudiado hay un 61.7% de HPV que son de alto riesgo oncogénico y el 2.4% son de bajo riesgo oncogénico.

De los casos de alto riesgo oncogénico un 45.2% están correlacionadas a citologías negativas, un 43% a L-SIL, un 7.8% a H-SIL y un 3.9% a ASC-US.

En nuestra serie observamos un 12.5 % de infecciones múltiples, con un predominio de L-SIL asociado

La infección por HPV de alto riesgo oncogénico disminuye con la edad, siendo la mayor incidencia de infección por HPV de bajo riesgo oncogénico la década de 31-40 años.

Las citologías de bajo grado disminuyen con la edad, siendo la mayor incidencia de alto grado en la década de 31-40 años.

En el estudio y seguimiento de las lesiones displásicas de cervix es importante la detección del HPV, que junto con el diagnóstico citológico, nos marcará el tratamiento a seguir.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 327

### ESTUDIO DE EFICACIA DE UN INHIBIDOR DE PI3K EN UN MODELO XENÓGRAFO DE CÁNCER DE MAMA TRIPLE NEGATIVO DERIVADO DE PACIENTE

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: PATRICIA COZAR, MARIA TERESA CALVO FERNANDEZ, JUDIT GRUESO, PILAR ANTON, MARTA GUZMAN; OLGA RODRIGUEZ, CELINA GARCIA GARCIA, YASIR IBRAHIM, NEREA PERIO, JOSE MARIA PEREZ, JOSE JIMENEZ, VIOLETA SERRA

Centro de trabajo: VHIO (VALL D'HEBRON INSTITUTO DE ONCOLOGIA)

Provincia: BARCELONA

Correo electrónico del primer firmante: pcozar@vhio.net

#### Introducción:

Aproximadamente el 15% de los tumores de mama son del subtipo denominado triple negativo (TNBC, del inglés triple negative breast cancer) que, a pesar de presentar una buena respuesta inicial a los tratamientos quimioterapéuticos, éstos adquieren pronto

resistencia y desarrollan recurrencias y metástasis. Actualmente, no existe una clara recomendación de terapia sistémica específica para el tratamiento de este tipo de tumores, aunque ya hay diversas terapias emergentes en investigación pre-clínica y clínica.

#### Objetivos:

Desarrollar un modelo xenógrafo de tumores procedentes de pacientes con TNBC. En este modelo se estudiará la eficacia antitumoral de un fármaco que inhibe PI3K (del inglés, phosphatidylinositol 3-kinase), una proteína directamente implicada en la proliferación y supervivencia de las células malignas.

#### Material y Métodos:

Para el desarrollo del modelo xenógrafo se reciben biopsias de pacientes con TNBC (tumor primario o metástasis). Se implanta una parte, de forma subcutánea, en ratones inmunodeprimidos y, otra parte se destina para realizar estudios bioquímicos, histológicos y moleculares que caracterizarán la muestra. Tras una fase de expansión por trasplante seriado, se comprueba la concordancia de la histología y el genotipo del xenógrafo con el tumor original del paciente. En una última fase, se analiza el efecto antitumoral del inhibidor de PI3K a lo largo de un ciclo de tratamiento. Para ello se realiza un seguimiento del volumen tumoral así como de la toxicidad derivada de la administración del compuesto. Al finalizar el experimento se diseccionan los tumores y se analiza bioquímicamente la actividad del agente anti-tumoral (WB, IHQ, IF, qPCR,...).

#### Resultados:

Los marcadores moleculares del modelo xenógrafo desarrollado coinciden con los del paciente de origen, de manera que se asemeja a la biología original del tumor. Además, el inhibidor de PI3K impide el crecimiento del tumor y reduce la señalización de la vía de PI3K.

#### Conclusiones:

El modelo xenógrafo desarrollado refleja la enfermedad de TNBC y permite investigar los diferentes contextos de sensibilidad/resistencia de terapias dirigidas contra la vía de PI3K.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 336

### CARACTERIZACIÓN DE LA AMPLIFICACIÓN GÉNICA Y LA EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE EGFR EN LESIONES INTRAEPITELIALES ESCAMOSAS DEL CUELLO DEL ÚTERO

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: (Marín Serrano, María del Carmen; Conesa Zamora, Pablo; Sahuquillo Frías, Laura)

Centro de trabajo: (Hospital Santa Lucía)

Provincia: (Murcia)

Correo electrónico del primer firmante: (averfra@hotmail.com)

#### Introducción:

La terapia molecular dirigida contra los receptores quinosina quinasa como el EGFR ha supuesto un cambio revolucionario en el tratamiento de numerosos tipos de cáncer. Ciertos tumores de colon y del pulmón muestran una mayor expresión del EGFR.

#### Objetivos:

El objetivo de este estudio es caracterizar la amplificación y la sobreexpresión de EGFR y su relación con el genotipo virus de papiloma humano (VPH) en lesiones precursoras del cáncer de cérvix.

#### Material y Métodos:

Una serie de 26 lesiones normales/benignas del cérvix, 21 lesiones escamosas intraepiteliales de bajo (LSIL), 79 de alto grado (HSIL) y 5 carcinomas cervicales invasivos (CCI) fueron incluidos en micromatrices de tejido en donde se realizó la hibridación in situ fluorescente (FISH) con control centromérico y la tinción inmunohistoquímica (IHQ) para el EGFR. El genotipado del VPH se realizó a partir de cortes histológicos de los bloques orginales.

#### Resultados:

Los HSILs mostraron mayor positividad para EGFR que los casos LSIL-N/B (43% vs. 25,5%,  $p=0,0326$ ). No se observó asociación de la expresión de EGFR con la positividad al VPH, al VPH16 ni con la presencia de coinfección por varios tipos de VPH. Se observó un aumento en el número de copias del gen EGFR con el grado de lesión (CCI: 50%, HSIL:28%, LSIL:0%, N/B:0%,  $p<0,0001$ ). Sin embargo, el número de copias del control centromérico fue igual al del gen EGFR.

#### Conclusiones:

La expresión de EGFR por IHQ se asocia con el grado de lesión. La coamplificación de EGFR y el control centromérico indica fenómenos de aneuploidía asociados con la progresión tumoral que no serían, por tanto, responsables del aumento de expresión observado por IHQ.

**PAAF DE TIROIDES, REVISIÓN DE NUESTRA EXPERIENCIA EN LOS DOS ÚLTIMOS AÑOS**Trabajo de: *Anatomía Patológica*

Autor/a/s: (Marín Serrano, María del Carmen; Bernal Mañas, Carmen María)

Centro de trabajo: (Hospital Santa Lucía)

Localidad: Código Postal: Provincia: (Murcia)

Correo electrónico del primer firmante: (averfra@hotmail.com)

**Introducción:**

La PAAF es el método de elección en el diagnóstico de la patología tiroidea. Se ha observado un incremento en su demanda, debido al uso rutinario de la punción en el seguimiento de los pacientes y por el hallazgo incidental en exploraciones radiológicas por otras patologías, como la RMN cervical. Además, la terminología usada ha sido muy variable, lo que ha contribuido a la confusión del clínico en cuanto a la actitud terapéutica.

**Objetivos:**

- Reevaluar la INDICACIÓN DE LA PAAF tiroidea.
- UNIFICAR LA TERMINOLOGÍA diagnóstica citológica.
- Mantener un CONTROL DE CALIDAD INTERNO al correlacionar los diagnósticos citológicos con las piezas quirúrgicas.

**Material y Métodos:**

De un total de 1033 punciones revisadas (884 pacientes), realizadas en dos años consecutivos en el área de salud 2 de Cartagena, disponemos de las correspondientes piezas de tiroidectomía en 182 pacientes. La mayoría fueron ecoguiadas y realizadas entre radiólogo y patólogo, con control in situ del material obtenido.

**Resultados:**

Las punciones tiroideas en nuestro servicio han supuesto un 30,85% del total de punciones realizadas durante los dos años revisados.

Un 79,12% de los diagnósticos entre la citología y la pieza quirúrgica fueron concordantes. El 20,88% restante fueron diagnósticos no concordantes. Dentro de los falsos negativos, 6 casos correspondían a microcarcinoma papilar incidental, habiéndose realizado la PAAF de otro nódulo; en un caso informado de quiste coloide se encontró un carcinoma papilar quístico, y otro con diagnóstico de tiroiditis se halló en la pieza quirúrgica un carcinoma papilar oncocítico.

Al reclasificar nuestros diagnósticos según el sistema Bethesda disminuyeron en un 33% los casos de lesiones foliculares indeterminadas.

En los BMN no se modificó en ningún caso el diagnóstico citológico de la primera punción. Las punciones no válidas para el diagnóstico supusieron el 3,85% del total de los 182 pacientes.

**Conclusiones:**

- Indicación de la PAAF: en el diagnóstico inicial de toda patología tiroidea. Sólo en los NÓDULOS ÚNICOS se repetirá, siempre que no haya habido un diagnóstico citológico concluyente en la primera PAAF o ante cambios ecográficos sospechosos.
- La mayoría de las discrepancias diagnósticas surgen con el diagnóstico de PROLIFERACIÓN FOLICULAR, que deberíamos incluir siempre en una categoría del sistema Bethesda.
- IMPRESINDIBLE LA CORRELACIÓN entre diagnóstico citológico y la pieza quirúrgica, como método de CONTROL DE CALIDAD INTERNO.

**CARACTERIZACIÓN DE LINEAS CELULARES TUMORALES DE COLON TRANSFECTADAS CON GENES INDUCTORES DE APOPTOSIS**Trabajo de: *Anatomía Patológica*

Autor/a/s: Héctor Navarro Linares, Raquel Gómez Ramírez, Cristina Barberan Aceituno, Iván Gutiérrez Aranda, Blanca Cáceres Granados, Houria Boulaiz Tassi, Antonia Aránega Jiménez, Ana Isabel Sáez Castillo, Ana María Sánchez López, Blanca Miranda Serrano

Centro de trabajo: Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía

Provincia: Granada

Correo electrónico del primer firmante: hector.navarro.exts@juntadeandalucia.es

**Resumen:**

La apoptosis o "muerte celular programada" es una forma de suicidio celular genéticamente definida, que ocurre de manera fisiológica en numerosas circunstancias, destacando: la

morfogénesis, la renovación tisular y en la regulación del sistema inmunitario. Mediante la apoptosis se mantiene un equilibrio entre el ritmo de proliferación y muerte celular de modo que el número de células permanece constante. Si se rompe este equilibrio se llega a una situación crítica, ya sea por aumento de células o por disminución de ellas.

El control de la apoptosis depende de un conjunto de proteínas situadas en el citoplasma de las células. Existen varias vías para la activación de la apoptosis, la intrínseca o mitocondrial y la vía extrínseca a través de receptores superficiales: receptores de muerte: La vía extrínseca y la vía mitocondrial convergen a nivel de la activación de la caspasa-3. Hay que tener en cuenta que en la mayoría de las condiciones, este solapamiento es mínimo, y las dos vías operan de manera independiente.

El cáncer colorrectal es una de las causas más importantes de muerte relacionadas con cáncer. Sin embargo, el diagnóstico oportuno con frecuencia lleva a una cura completa.

Por lo que respecta al cáncer colorrectal, los avances en el conocimiento de la etiología de la enfermedad a nivel molecular no se han asociado con una mejora en el tratamiento del paciente. La eficacia clínica y la toxicidad de las drogas más utilizadas en el tratamiento del cáncer colorrectal de cada paciente son por el momento impredecibles.

Es por ello, que entre los paneles de marcadores para la caracterización de neoplasias del Biobanco se ha determinado disponer de uno para caracterizar este tipo de tumor.

**Objetivos:**

- Identificar un panel de marcadores de apoptosis reducido pero a la vez informativo de la activación o inhibición de este proceso en los tumores. Los marcadores deben ser evaluables mediante inmunohistoquímica o FISH
- Puesta a punto de la evaluación de los marcadores seleccionados.
- Validación del panel de marcadores en un conjunto de líneas celulares tumorales de las que se conoce su perfil de alteración del mecanismo de la apoptosis. Selección de las líneas celulares.
- Analizar el panel en líneas celulares tumorales de colon tratadas con genes que actúan controlando la apoptosis

**Material y Métodos:**

Partimos de la línea celular Caco-2, que es derivada de un adenocarcinoma colorectal epitelial humanoide. Ésta línea ha sido transfectada con genes que inducen la apoptosis, Para ello los genes fueron integrados en un vector de expresión y su expresión fue inducida en las células de cáncer de colon transfectadas, la expresión del gen en el cultivo se ha producido mediante la administración de doxiciclina. Para el procesamiento posterior se levantan las células y se forma un coágulo celular mediante plasma y trombina. Éstos coágulos se fijan en formol y se incluyen en parafina. Se utilizaron placas en distintos estadios de inducción del gen dependiendo del tiempo de actuación de éste. Con los bloques resultantes se confecciona un Tissue Micro Array con el que se hará el panel seleccionado de marcadores inmunohistoquímicos. De los muchos anticuerpos descritos en la literatura se han elegido P53, Ki 67, P21, P27, Mult Protein Homolog 1 MLH1, MutS homolog 2 (MSH2) MutS homolog 6 (MSH6) Antígeno Carcinoembrionario CEA(I-7), Pten (6H2.1), Catepsina S (cat s), thymidylate synthase (106) SMAD4 (B8).

La inmunohistoquímica se realiza en el inmunoteñidor de dako autostainer 48 link con el kit de visualización Envision Flex. Se han probado varias condiciones de desenmascaramiento así como diversas clonas y diluciones.

**Resultados:**

Panel para la evaluación de cáncer de colon: Tabla resumen de la puesta a punto de Ac

Ac	P53	P21	P27	MLH1	Ki 67
<b>Sistema revelado</b>	Envision Flex Dako				
<b>Desenmascar.</b>	High(Ph 9)	Low(Ph 6)	High(Ph 9)	High(Ph 9)	High(Ph 9)
<b>Tiempo Ac 1°</b>	20	30	20	20	20
<b>Clona</b>	DO7	SX 128	sx53g8	ES05	MIB1

**Conclusiones:**

La aplicación de técnicas inmunohistoquímicas en coágulos celulares permite analizar una batería amplia de anticuerpos y dilucidar el efecto terapéutico de genes inductores de apoptosis en líneas de cáncer de colon humano. Dicha metodología es rápida y da una información muy útil en este tipo de estudios.

**DONACIÓN DE TEJIDOS EN EL HOSPITAL CENTRAL DE ASTURIAS.PRESENTE Y FUTURO**Trabajo de: *Anatomía Patológica*

Autor/a/s: MARIA BERDAYES FERNÁNDEZ, ANA ISABEL QUIÑONES VALDÉS, MARÍA BEGOÑA ÁLVAREZ GONZÁLEZ, MARIA BELÉN ESTÉVEZ VIEJO Y NELSON FUENTES MARTÍNEZ

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO CENTRAL DE ASTURIAS

Provincia: ASTURIAS

Correo electrónico del primer firmante: delma133@hotmail.com

### **Introducción:**

La donación de tejidos (córnea, osteo-tendinosas, segmentos vasculares y piel) es una práctica habitual en nuestro centro. La utilización de los tejidos para trasplantes depende de una serie de criterios, tales como, hemocultivo, serología, edad y la ausencia de tumores malignos, para este último criterio tiene que realizarse una autopsia. Por otro lado, Asturias, Madrid y Cataluña lideran la donación y el trasplante de tejidos. En nuestra comunidad, el perfil de los donantes y la cantidad de donaciones ha sido similar en los últimos 3 años.

### **Material y Métodos:**

Se analizaron los datos de donantes de tejido correspondientes a los años 2009, 2010 y 2011. Se extrajo el sexo, la edad y la causa de fallecimiento con el objetivo de establecer el perfil de nuestros donantes. Se compararon los datos de los 3 años para comparar la evolución de las donaciones en este período.

### **Resultados:**

El perfil del donante no ha variado predominando el donante de órganos frente al de tejidos, siendo el perfil de éste último de un hombre de una edad media de 45,7 años y la causa de muerte accidente.

Año 2009: número total de autopsias 134, número de donantes de tejidos 11, media de edad 45 años, tejidos más donados hueso y tejido ocular.

Año 2010: número total de autopsias 161, número de donantes de tejido 14, media de edad 43,6 años, tejidos más donados hueso y tejido ocular.

Año 2011: número total de autopsias 176, número de donantes de tejido 15, media de edad 48,6 años, tejidos más donados tejido ocular y hueso.

Otros tejidos donados durante estos años fueron arterias, piel, ligamentos y tendones.

### **Discusión:**

La autopsia juega un papel fundamental en la donación de tejidos, puesto que es obligatorio excluir tumoraciones malignas para que estos sean viables. En nuestro centro es una práctica habitual, encontrándonos dentro de los 3 primeros del país en realizar trasplantes y ceder tejidos a otros hospitales. Antes de realizar la autopsia se toman muestras para serología, hemocultivo y se descartan enfermedades crónicas incompatibles con la donación, luego se toman muestras de tejido (osteo-tendinosas, vasos y córneas) y por último se excluye una lesión tumoral maligna mediante una autopsia completa. Si la autopsia verifica un tumor maligno los tejidos son desechados, de lo contrario se aceptarían en el banco de tejidos. Nuestros donantes son principalmente hombres, quizás porque suelen realizar trabajos de riesgo, padecen más enfermedades cardiovasculares y son más susceptibles al suicidio. Además los donantes mayores de 75 años se rechazan. El hecho de que haya un menor número de donaciones femeninas podría ser la existencia de tabúes sociales. No hemos logrado incrementar las donaciones en los últimos 3 años por lo que creemos que debería de realizarse un trabajo de concienciación social dirigido a solventar este problema. Por último, el perfil de los pacientes es similar, predominando el sexo masculino, siendo la causa de muerte los accidentes y presentando una media de edad equiparable. Sería interesante estudiar las verdaderas causas que influyen en que el perfil sea tan homogéneo, para poder saber a quien dirigir con mayor énfasis el trabajo de concienciación.

### **Bibliografía:**

Base de datos de la Unidad de Trasplantes del Hospital Universitario Central de Asturias.

Asociación Española de Bancos de Tejidos.

The Tissue Center Of Central Texas

# BIOQUÍMICA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 009

## CASO CLÍNICO REFERIDO A UNA ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA AGUDA

*Autor/a/s:* MORENO LOCUBICHE, MARÍA ÁNGELES; DE LA TORRE BULNES, JUAN FRANCISCO; ORTIZ RODRÍGUEZ, NASTIA CARIDAD; BAEZA SERNA, MARÍA SALUD

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LA ARRIXACA

*Provincia:* MURCIA

*Correo electrónico del primer firmante:* GELESMORENOLOCUBICHE@GMAIL.COM

### Introducción:

La encefalopatía hepática es un síndrome de alteración mental que aparece en pacientes con insuficiencia hepática aguda o crónica. La encefalopatía hepática aguda se presenta en casos de necrosis hepática masiva asociada con infecciones virales, fármacos, tóxicos, o con esteatosis micronodular. Las manifestaciones clínicas son diversas y varían desde cambios sutiles de la personalidad hasta el coma profundo.

### Caso Clínico:

Mujer de 19 años que acude a la puerta de urgencias mostrando síntomas de confusión leve, ansiedad, alteración de la personalidad y movimiento involuntario en manos. Ante la sospecha de que se trate de síntomas provocados por la ingesta de drogas, se solicita una analítica completa, incluyendo el estudio de la presencia de tóxicos en orina y alcohol en sangre. Al no revelar nada dicha analítica, y tras comenzar la paciente a convulsionar y entrar en coma, se solicita una medición de los niveles de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en sangre. La analítica reveló una concentración de 531 µmoles/L. Ningún otro parámetro bioquímico de tipo hepático estaba alterado, ni se observó daño hepático o hepatomegalia.

### Diagnóstico:

Encefalopatía hepática aguda de origen desconocido.

### Evolución:

Se sometió a la paciente a una dieta pobre en proteínas, y aporte calórico suficiente mediante carbohidratos y lípidos. Se administró lactulosa a través de sonda, a dosis iniciales de 80 g repartidos en 3 tomas, con el fin de reducir la producción y reabsorción de amoníaco. Se le administró también benzoato, un quelante del amonio. A las 24 horas, los niveles de amonio habían descendido a la mitad, y la paciente salió del coma. Durante nueve días más, se mantuvo dicho tratamiento, reduciendo progresivamente la dosis de lactulosa. A los 9 días, los niveles de amonio se habían reducido hasta la normalidad.

### Pronóstico:

Estudiando el historial de la paciente, se vio que a los 11 años había acudido a consultas de neurología infantil por alteraciones de la personalidad, no habiéndose determinado la causa. Fue tras la analítica realizada en urgencias cuando se determinó que los elevados niveles de amonio en sangre eran los que habían alterado su comportamiento. La paciente no había mostrado ningún episodio agudo hasta ese momento. Tras el episodio agudo, se estudió a la paciente durante meses, para determinar la causa de la hiperamonemia. Se determinó que era causada por un déficit de ornitín transcarbamoilasa (OTC). Este déficit era debido a una mutación en el cromosoma X de origen materno. La madre presentaba la misma mutación, siendo en su caso asintomática. La paciente se mantiene desde entonces sometida a una estricta dieta pobre en proteínas y reforzada con suplementos de carnitina, folato y arginina.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 010

## HIPERCALCEMIA SEVERA CAUSADA POR ADMINISTRACIÓN DE CALCITRIOL

*Autor/a/s:* BELTRÁN BELTRÁN, MARÍA; LÓPEZ JESÚS, ISABEL; MORENO PALMERO, JESÚS MARÍA; MARTÍNEZ RUIZ, ANA; ORTÍZ RODRÍGUEZ, NASTIA CARIDAD; MORENO LOCUBICHE, MARÍA ÁNGELES; BAEZA SERNA, MARÍA SALUD; MARTÍNEZ HERNÁNDEZ, PEDRO.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LA ARRIXACA

*Provincia:* MURCIA

*Correo electrónico del primer firmante:* MARÍAB65@MIXMAIL.COM

### Introducción:

El hiperparatiroidismo primario y las neoplasias malignas causan el 90% de las hipercalcemias, esto nos obliga a tener en cuenta todas las hipercalcemias, incluso las asintomáticas, y realizar un diagnóstico diferencial para conocer la causa que las provoca.

### Caso clínico:

Mujer de 79 años que acude a la puerta de urgencias del Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca en mayo de 2009 por presentar astenia, hiporexia y somnolencia. Se observan unos niveles de calcio total de 15,8 mg/dl. Antecedentes personales a destacar: Fue intervenida un año antes de bocio multinodular y de adenoma de paratiroides superior derecho. 3 meses antes del ingreso se le asocia calcitriol 0,50 mcrg/día. Niveles de hormona paratiroidea en enero de 2009 fue de 64 pg/ml y en mayo de 2009 de 8 pg/ml (9-65).

Las concentraciones de calcio desde el 2008 hasta junio del 2009 fueron las siguientes: valores de 6,8 mg/dl cuando se le realiza la paratiroidectomía, 8,5 mg/dl cuando se le asocia calcitriol, 15,8 mg/dl cuando acude a su centro de salud y 8,3 mg/dl cuando se le da el alta. En el ingreso observamos una disminución de hormona paratiroidea se normalizan. Evolución de la paciente: se trata con furosemda, corticoides y sueroterapia, se suspende los suplementos de calcio y vitamina D y se mejoran los niveles de calcio pero tiene que interrumpirse el tratamiento con diuréticos por elevación de creatinina y tensión arterial baja. El 1/06/2009 se le da el alta.

### Conclusión:es:

Un diagnóstico diferencial inicial que se podría plantear serían complicaciones debidas a la paratiroidectomía subtotal de la paciente, ya que puede que aparezca un hiperparatiroidismo recurrente cuando el calcio se normaliza en el postoperatorio, pero después de meses o años puede volver a aparecer una hipercalcemia.

El diagnóstico definitivo fue hipercalcemia severa secundaria a administración de calcitriol.

El calcitriol es la forma de vitamina D que se usa para prevenir niveles bajos de calcio en pacientes cuyos riñones o paratiroides no funcionan correctamente.

Existe una correlación muy cercana entre tratamiento con calcitriol y el desarrollo de hipercalcemia, por tanto es necesario un ajuste individual de la dosis.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 011

## EVALUACIÓN DE HIPOCOLESTEROLEMIA EN PACIENTES GRAVES CON SEPSIS DIAGNOSTICADA POR PROCALCITONINA

*Autor/a/s:* LÓPEZ JESÚS, ISABEL; MORENO PALMERO, JESÚS MARÍA, BELTRÁN BELTRÁN, MARÍA; ORTÍZ RODRÍGUEZ, NASTIA CARIDAD; MARTÍNEZ HERNÁNDEZ, PEDRO.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LA ARRIXACA

*Provincia:* MURCIA

*Correo electrónico del primer firmante:* ISALOPEZ65@YAHOO.ES

### Introducción:

El diagnóstico rápido de la sepsis y su terapia son 2 aspectos muy importantes en los pacientes críticos. La procalcitonina (PCT) es considerada un marcador temprano y juega un papel importante en el diagnóstico de sepsis. Está descrito que en numerosos procesos inflamatorios tienen lugar cambios en los niveles plasmáticos de lipoproteínas, aunque se sabe poco acerca de su metabolismo en pacientes con sepsis.

### Objetivos:

Evaluar el perfil lipídico en pacientes críticos con sepsis diagnosticada por procalcitonina.

### Pacientes y métodos:

Estudio prospectivo en el que se incluyeron un total de 60 pacientes de la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) del Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. De ellos, 36 pacientes (grupo 1) presentaban una PCT > 2 ng/ml, y 24 pacientes (grupo 2) una PCT < 0,5 ng/ml. Los niveles plasmáticos de PCT, colesterol total (CT), HDL-colesterol (HDL-c) y triglicéridos (TRG) se analizaron en un COBAS 6000 (Roche diagnostic) y el LDL-colesterol (LDL-c) se calculó con la fórmula de Friedewald. El diagnóstico de sepsis se consideró con PCT > 2 ng/ml. El estudio estadístico se realizó con el paquete informático (SPSS) 15.0.

### Resultados:

En pacientes del grupo 1 (n=36, 60%) los valores medios son: PCT 11,7 ng/ml (IC 95% 6,5), HDL 20,4 mg/dl (IC 95% 4,1), CT 95,8 mg/dl (IC 95% 13,8), LDL 51,7 mg/dl (IC 95% 11,8), TRG 121,4 mg/dl (IC 95% 26,8). En los pacientes del grupo 2 (n=24, 40%) los valores medios son: HDL 28,8 mg/dl (IC 95% 4,6), CT 117,7 mg/dl (IC 95% 15,2), LDL 65,7 mg/dl (IC 95% 11,1), TRG 116 mg/dl (IC 95% 21,2). Los valores medios de HDL-c y CT presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos 1 y 2 (p= 0,01 y p= 0,044 respectivamente). No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores medios de LDL-c y TRG para ambos grupos.

## Conclusión:es:

Se observó una disminución de la concentración del colesterol total (HDL-c) en pacientes críticos en un estado temprano de la sepsis severa diagnosticada por la procalcitonina, respecto a pacientes críticos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 015

### LOS ANTICUERPOS MONOCLONALES TERAPÉUTICOS COMO POSIBLE INTERFERENTE EN LA INTERPRETACIÓN DEL PROTEINOGRAMA SÉRICO

Autor/a/s: Pérez Gómez, P.; Sánchez Muñoz, A.; Reillo Sánchez, C. Valiente López, L.

Centro de trabajo: Servicio de Bioquímica, Hospital General Universitario Gregorio Marañón

Provincia: MADRID

Correo electrónico del primer firmante: pedro\_perez@hotmail.es

## Introducción:

La electroforesis capilar es un método analítico que permite la separación de las proteínas séricas en 6 fracciones: albúmina,  $\alpha$ 1-globulinas,  $\alpha$ 2-globulinas,  $\beta$ 1-globulinas,  $\beta$ 2-globulinas y  $\gamma$ -globulinas. Su principal aplicación clínica, es el diagnóstico y seguimiento de las gammopatías monoclonales. Distintos interferentes modifican el proteinograma sérico, dando lugar a la presencia de bandas anormales que pueden ser interpretadas inadecuadamente como componentes monoclonales, pudiendo provocar un error diagnóstico.

## Objetivo:

Demostrar si la administración de terapias basadas en anticuerpos monoclonales modifica el proteinograma sérico de pacientes sometidos a dicho tratamiento.

## Materiales y Método:

Se estudió el efecto de 4 anticuerpos monoclonales intravenosos: Rituximab, Trastuzumab, Cetuximab y Bevacizumab, sobre una muestra de suero con un patrón electroforético normal. Para la separación de las fracciones proteicas se utilizó el equipo CAPILLARYS 2 de SEBIA, realizándose la detección a una  $\lambda$  de 200 nm. Se procesaron tres series de muestras. Primera: muestra de suero de paciente control, segunda: cuatro alícuotas del suero control a las que se añadió cada uno de los 4 anticuerpos monoclonales, para obtener una concentración equivalente a la dosis terapéutica recomendada para un paciente de 70 kg y tercera: cuatro alícuotas de suero control a las que se añadió el doble de volumen que en la serie anterior de cada uno de los anticuerpos monoclonales

## Resultados:

El análisis comparativo de los proteinogramas de la primera y la segunda serie, puso de manifiesto la aparición de distintos componentes monoclonales en la región de las  $\gamma$ -globulinas. Cada uno de los anticuerpos monoclonales presentaba un pico y una localización específica dentro de esta región, Bevacizumab y Cetuximab en el extremo anódico mientras que Trastuzumab y Rituximab en la porción catódica. Estos resultados se confirmaron con el análisis de la tercera serie de muestras, donde los componentes monoclonales presentaron el mismo patrón de migración y un pico de mayor intensidad

## Conclusión:es:

- Cetuximab, Bevacizumab, Trastuzumab y Rituximab constituyen una fuente exógena de proteínas monoclonales que al administrarse a dosis terapéuticas producen la aparición de un pico en diferentes posiciones de la fracción  $\gamma$ -globulina pudiendo confundirse con un componente monoclonal. La altura de estos picos es dosis-dependiente y cada agente terapéutico muestra un patrón de migración característico.

- Los anticuerpos monoclonales terapéuticos se administran en el tratamiento de tumores hematológicos y de tumores sólidos como linfomas no-Hodgkin, de mama, de colon y en enfermedades del tejido conectivo. En estos casos, la electroforesis sérica está indicada como ayuda al diagnóstico y en el seguimiento de la enfermedad.

- De estos resultados se puede concluir que los anticuerpos monoclonales intravenosos utilizados en el tratamiento de diversas patologías, deben ser tenidos en cuenta a la hora de interpretar el proteinograma de pacientes sometidos a dichas terapias dado que debido a su naturaleza biológica pueden simular componentes monoclonales endógenos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 021

### ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD DE LA CONCENTRACIÓN DE LA PARATIRINA (PTH)

Autor/a/s: Rafael Hernica Ortiz, Teresa Valls Guallar, Ariana Ferri Font y Magda Macià Montserrat

Centro de trabajo: Laboratorio Clínico LHospitalet-Cornellà

Provincia: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: rafael@hernica.com

## Introducción:

La paratirina (PTH) ayuda al organismo a mantener una concentración estable de calcio en sangre.

La estabilidad de una magnitud se puede definir como el periodo en que la magnitud mantiene su valor dentro de unos límites establecidos.

La extracción de sangre se hace en nuestro laboratorio porque se aconseja tratarla en condiciones especiales: centrifugar la muestra rápidamente y congelar el suero obtenido.

## Objetivos:

El objetivo de este estudio consiste en evaluar la estabilidad de la concentración de paratirina (PTH) en el suero de muestras que van a ser centrifugadas cinco horas después de la extracción.

## Material y Métodos:

Se procesan 166 muestras de suero correspondientes a 83 pacientes. A cada paciente se le extraen dos tubos de sangre de 8ml con gel separador (Vacuette).

Una de las muestras se centrifuga rápidamente, se alícuota en tubo de 5ml y se congela a  $-20^{\circ}\text{C}$ ; la otra muestra se deja a temperatura entre  $+21$  y  $+25^{\circ}\text{C}$ , durante 5 horas y pasado este tiempo se centrifuga y se alícuota en tubo de 5 ml y se congela a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Las muestras se procesan simultáneamente y medimos la concentración de la paratirina en el suero con el analizador Immulite 2000 (Siemens Healthcare Diagnostics), mediante la técnica de enzimoimmunoanálisis quimioluminiscente no competitiva en fase sólida (con dos anticuerpos policlonales dirigidos hacia la paratirina).

Para el cálculo del coeficiente de variación analítico (CVA) se procesa el material control (Intact PTH Immunoassay Bi-Level Control de Siemens Healthcare Diagnostics).

El análisis de los resultados para evaluar la estabilidad de la paratirina siguen un criterio metrológico propuesto por la Sociedad Española de Bioquímica y Patología Molecular (SEQC), a partir de la expresión: ESTABILIDAD =  $1,65 \times \text{CVA}$ ; donde 1,65 es el valor que asegura una confianza estadística del 95% y CVA corresponde a la imprecisión interdía.

Se calculó el porcentaje de cambio observado (CVO) entre los resultados de la paratirina, obtenidos en las muestras centrifugadas después de la extracción (Xi), y los resultados de la paratirina de las muestras centrifugadas a las 5 horas (Yi).

Se considera la magnitud en estudio estable, cuando el valor del porcentaje de cambio observado (CVO) se encuentra dentro del intervalo ( $-1,65 \cdot \text{CVA}$ ;  $+1,65 \cdot \text{CVA}$ ).

## Resultados:

El rango de concentración estudiado es de 1,84-36,5 pmol/L.

La media de los valores de las muestras centrifugadas inmediatamente (Xi) es 9,09 pmol/L.

La media de los valores de las muestras centrifugadas cinco horas después de la extracción (Yi) es 8,69 pmol/L.

El coeficiente de variación analítico en el período de estudio es de 5,2%.

El intervalo de estabilidad obtenido es ( $- 8,6$ ;  $8,6$ ).

El porcentaje de desviación obtenido (CVO) es  $+ 2,1 \%$ , y no sobrepasa el límite de estabilidad.

## Conclusión:es:

Los resultados obtenidos en este estudio indican que la paratirina en el suero permanece estable en muestras que son centrifugadas cinco horas después de la extracción.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 022

### VALORACIÓN DEL MÉTODO DE COMUNICACIÓN DE VALORES CRÍTICOS EN EL LABORATORIO DE BIOQUÍMICA URGENTE

Autor/a/s: M<sup>º</sup> Rosa Corredera Sánchez, M<sup>º</sup> Mar Solís García, Rocío Ramos Álvarez, M<sup>º</sup> José Campo Redondo, María Gómez López, Roxana Rodríguez Rodríguez, Elena López Gómez.

Centro de trabajo: Hospital San Agustín

Provincia: ASTURIAS

Correo electrónico del primer firmante: rosa\_corsa@yahoo.es

## Introducción:

El valor crítico es el resultado analítico que refleja determinados estados patológicos que pueden poner en peligro la vida del paciente, requiriendo atención terapéutica inmediata.

La comunicación del valor crítico ha supuesto una mayor diligencia a la hora de tomar decisiones clínicas cruciales en beneficio del paciente, por ello es importante no sobresaturar su comunicación estableciendo unos límites adecuados con los protocolos médicos.

## Objetivo:

Evaluar el procedimiento de comunicación de valores críticos en análisis bioquímicos urgentes en el Hospital San Agustín (Avilés, Asturias) durante el periodo comprendido entre noviembre del 2011 y enero del 2012.

Como criterio de calidad se estima que el tiempo de comunicación del valor crítico no supere los 30 minutos.

#### Material y Método:

Se implanta un protocolo de actuación ante valores críticos. En presencia de un parámetro susceptible de notificación clínica urgente, se genera una prueba trazadora denominada "TELEFO" en el sistema informático del laboratorio (Omega 3000, Roche Diagnostics).

En la prueba "TELEFO" se incluye un comentario donde debe constar la persona receptora de la información, la persona que comunica la misma y la hora en la que se realiza dicha actuación.

De esta manera se calcula el tiempo de demora transcurrido como la diferencia existente entre la hora en la que se genera la prueba "TELEFO" y la hora de notificación del aviso.

Se consideran no necesarios de comunicación aquellos valores críticos creados como consecuencia de una patología crónica o notificados con anterioridad.

El estudio estadístico de los datos se ha realizado mediante una hoja de cálculo Microsoft Excel.

#### Resultados:

Se han analizado un total de 12.949 muestras recibidas en el Laboratorio de Urgencias en el periodo anteriormente indicado.

El sistema informático ha generado 317 pruebas trazadoras de "TELEFO" (2.44% del total procesado), de las cuales 137 (43.2%) son valores críticos informados y 180 (56.8%) valores críticos no comunicados.

El tiempo de demora de aviso de los valores críticos se muestra en la siguiente tabla:

TIEMPO	VALORES CRÍTICOS COMUNICADOS	% VALORES CRÍTICOS
< 15 minutos	108	78.8
15 – 30 minutos	24	17.5
> 30 minutos	5	3.7

Siendo el tiempo medio de comunicación del valor crítico de 18,2 minutos.

#### Conclusión:

El 96.3% de los valores críticos fue informado en un tiempo menor de 30 minutos, cumpliéndose los criterios de calidad establecidos por el laboratorio.

Este procedimiento ha ocasionado un ligero aumento de la carga de trabajo para el personal técnico pero ha supuesto mejoras en la seguridad del paciente y los profesionales sanitarios, evitando retrasos en el proceso asistencial y diagnóstico de pacientes graves.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 023**

### ESTUDIO DEL COEFICIENTE DE VARIACION INTERDIA E INTRADIA DE UN KIT DE TROPONINA T ULTRASENSIBLE

*Autor/a/s:* DOLORES GARCIA RODRIGUEZ CONSUELO LAPUEBLA VIEL JUAN JOSE LAZARO DE LA OSA

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO NUESTRA SEÑORA DE VALME

*Provincia:* SEVILLA

*Correo electrónico del primer firmante:* LOGAR025@YAHOO.ES

#### Palabras Clave:

Troponina, coeficiente de variación .

#### Introducción:

La troponina es el marcador de elección de necrosis miocárdica en aquellos pacientes que presentan un síndrome coronario agudo.

#### Objetivos:

Es la evaluación de la técnica troponina T ultrasensible de Roche Diagnostics.

#### Material y Metodo:

Las determinaciones de troponina se realizaron mediante quimioluminiscencia, en el analizador Cobas 6000.

El análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS

El estudio del coeficiente de variación interdia e intradía se realizó con dos niveles de control:

– Interdia: se utilizaron los valores de los niveles de control en 20 días sucesivos .

– Intradía: se procesaron 20 muestras de cada nivel en un mismo día.

#### Resultados:

*Coeficiente de variación interdia*

– Control 1: Datos: 20; media: 0,02730; mínimo: 0.026; máximo: 0.028; desviación típica:

0.000657 y coeficiente de variación: 2.406 %; Intervalo de confianza al 95%:1.82 –3.52.

– Control 2: Datos: 20; media: 2.06900; mínimo: 2.000; máximo: 2.230; desviación típica: 0.049831 y coeficiente de variación: 2.408 % Intervalo de confianza al 95%; 1.83 – 3.53.

*Coeficiente de variación intradía*

– Control 1: Datos: 20; media: 0.02465; mínimo: 0.024; máximo: 0.026; desviación típica: 0.000587 y coeficiente de variación: 2.382% Intervalo de confianza al 95% 1.81 – 3.49.

– Control 2: Datos: 20; media: 1.88150; mínimo: 1.840; máximo:1.940; desviación típica: 0.029784 y coeficiente de variación 1.583% Intervalo de confianza al 95% 1.20 –2.32.

#### Conclusión:es:

Los datos obtenidos de los coeficientes de variación en los distintos niveles muestran que la troponina se trata de una buena técnica para el uso clínico diario

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 028**

### PROTOCOLO SGB +

*Autor/a/s:* MARIA FRANCISCA MUÑOZ MARIN, JUANA MORAL MORAL, ENCARNIA PUENTES DIAZ, JOAQUINA VISO RODRIGUEZ.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO SAN AGUSTIN

*Provincia:* JAEN

*Correo electrónico del primer firmante:* maripacaji@hotmail.com

#### Introducción:

La sepsis es una enfermedad producida por una infección bacteriana que pone en riesgo la vida del recién nacido. La sepsis neonatal se presenta más a menudo dentro de las 24 horas después del nacimiento, es la causa de infección más frecuente de mortalidad en este periodo. Los efectos de la sepsis conducen a:

Aumento de Leucocitos (Neutrofilia), con expresión de desviación a la izqda. (más pronunciada en función de la intensidad de la Infección).Producción de Citoquinas de la inflamación, Aumento de los efectos de la inmunidad humoral, Aumento de reactantes de fase aguda (PCR), Activación de la cascada de coagulación y agregación (Consumo) Plaquetar

#### Objetivo:

El RN (recién nacido) resulta infectado al comienzo del parto o tras la rotura de membranas. Los exámenes de laboratorio pueden ayudar a diagnosticar la sepsis neonatal e identificar la bacteria que está causando la infección.así pues el objetivo de nuestro trabajo es comprobar la efectividad de la prueba SGB+ que se ha realizado en los últimos años.

#### Método:

Los auto-analizadores del Hospital Universitario Linares (Jaén) son:

- vitros 5600: determinación de PCR y Glucosa: metodología de Bioquímica seca (Microslide).
- Advia 2120: determinación Hemograma: contaje de: Citometría flujo-diodo-laser.: S. Roja; Citometría flujo-citoquímicas: S. Blancos; Colorimetría HB (Hemoglobina).
- Frotis de SP :(sangre periférica)
- Tinción rápida Hemacolor: El tipo de color de los núcleos celulares, mayoritariamente rojo y púrpura, se basa en la interacción molecular entre eosina y un complejo azul B-ADN. Ambos colorantes forman el complejo. La fijación. intensidad de la coloración depende del contenido de azul B y de la relación entre azul B y eosiana amarilla.
- Microscopio de 100X: contaje células (100) entre leucocitos y cayados, dando el valor en %.

#### Material:

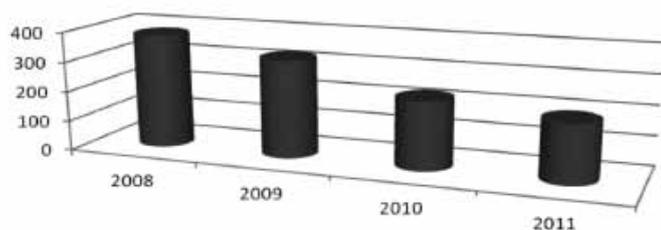
tubos para bioquímica, tubos para hemograma, portas, microscopio, tubos coagulación.

#### Resultados:

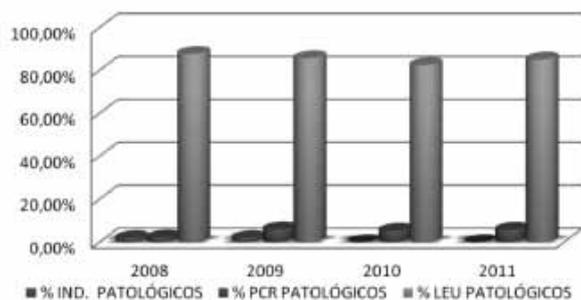
En nuestro Laboratorio de Urgencias del Hospital Universitario S. Agustín de Linares (Jaén), ha realizado estudio de sangre del RN en madres con SGB+, durante el periodo 2008-2011 se realizaron 1128 muestras de las cuales:

- El valor referencia para el estudio en nuestro Hospital Universitario Linares (Jaén) es 15% (INDIM).
- El recuento de neutrófilos, tanto inmaduros como totales, así como el índice NI/NT; la neutropenia es de gran valor para el diagnóstico de sepsis.

## TOTAL MUESTRAS



## SGB+



- La frecuencia de colonización en RN es de un orden 50% y solo 1% al 2% desarrollan la infección.
- El número de leucocitos totales, incluso con cifras  $<5000$  ó  $>20.000$ , no predictivo de sepsis.
- La proteína C reactiva (PCR) es un reactante precoz de fase aguda. Sintetizada por el hígado, aumenta en el transcurso de 6-7 horas tras un estímulo inflamatorio. Dado que la infección es la causa más frecuente de inflamación en el RN, la elevación de la PCR es un marcador útil de sepsis neonatal, está elevada ( $>0-1$  mg/dl) en el 85% de los RN con enfermedad bacteriana grave.

### Conclusión:

en nuestro Laboratorio de Urgencias del Hospital Universitario S. Agustín de Linares (Jaén) la prevención de SGB+ se realiza con una buena realización Coste-efectividad. Poco a poco la prueba disminuye en su demanda debido al mejor seguimiento del embarazo. Aun así gracias a esta prueba comprobamos que:

- La SGB+ ha disminuido gracias a la detección rápida y precoz, así en 2011 los RN con sepsis son escasos frente a una proporción considerable en 2008 (en la grafica observamos cómo, en 2008-2009, hay un índice elevado de todos los parámetros y el diagnóstico es sepsis frente a un repunte de dos parámetros en 2010-2011 cuyo diagnóstico es SGB-).
- Se logra disminuir la incidencia de sepsis Neonatal, donde los cuadros infecciosos se dan con una incidencia 1-4 % por cada 100 RN vivos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 033

## PROCALCITONINA (PCT) Y PROTEÍNA-C REACTIVA (PCR) COMO MARCADOR DE SEPSIS EN EL LABORATORIO ICS CAMP DE TARRAGONA

Autor/a/s: Pifarré Aranda, Sheila; Lezcano Lanza, Nuria; Paz Paz, Angeles

Centro de trabajo: Laboratorio clínico ICS Camp de Tarragona

Correo electrónico del primer firmante: sila\_pifarre@hotmail.com

### Introducción:

La PCR es un buen marcador de infección bacteriana siendo su determinación rápida y fácil de manejo.

La PCT se eleva entre 2-3 horas después del estímulo inicial, mientras que la PCR lo hace alrededor de las 12 horas, cuando la PCT ya alcanzó su máximo valor de concentración.

El hígado continúa sintetizando PCR durante varios días, incluso cuando el estímulo inflamatorio ha desaparecido, de forma que los valores plasmáticos pueden permanecer elevados aun cuando la infección está remitiendo.

A diferencia de la PCT, la PCR también aumenta en estados inflamatorios no infecciosos.

### Objetivo:

Comprobar que la PCT es más sensible que la PCR para el diagnóstico de la sepsis.

### Material y Método:

Durante el año 2011, se seleccionan 156 pacientes ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) polivalente de nuestro hospital, a los cuales se les solicita las determinaciones de PCR y PCT, y de estos se escogen 17 pacientes con diagnóstico de sepsis en el momento del ingreso,

Se compara PCT y PCR de estos 17 pacientes desde el ingreso en UCI, finalizar el tratamiento antibiótico.

### Resultados:

En el gráfico se observa que en el ingreso a UCI (PCR-1 y PCT-1), la PCR está más que la PCT. Esto puede ser originado por un proceso inflamatorio.

A las 24- 48 horas del inicio del tratamiento (PCR-2 y PCT-2) se observa un aumento de la PCT y PCR, a causa de que esta última continúa elevada horas más tarde.

Al finalizar el tratamiento, (PCR-3 y PCT-3) la PCT tiene unos niveles más bajos y en cambio esta aumentada la PCR, esto es debido a que se sigue sintetizando en el hígado después de que haya remitido el proceso infeccioso.

– Se adjuntará gráfica

### Conclusión:

La PCT es proporcional al grado de infección. Además, los niveles de PCT se correlacionan con diferentes estadios patológicos y es más específica que la PCR ya que, se puede elevar a causa de otras enfermedades inflamatorias y continuar elevada aunque la infección esté remitiendo

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 034

## HORMONA PARATIROIDEA (PTH) Y CILINDROS GRANULOSOS EN LA INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA (IRC) EN EL LABORATORIO CLÍNICO ICS CAMP DE TARRAGONA

Autor/a/s: Pifarré Aranda, Sheila; Zamora Fernandez, José Carlos; Cristina.

Centro de trabajo: Laboratorio clínico ICS Camp de Tarragona

Provincia: Tarragona

Correo electrónico del primer firmante: sila\_pifarre@hotmail.com

### Introducción:

La insuficiencia renal crónica es la pérdida lenta de la función de los riñones que puede suceder en meses o años. Por tanto, los síntomas no aparecen hasta que el funcionamiento del riñón es inferior a una décima parte de lo normal.

La PTH es el regulador más importante de los niveles de calcio y fósforo en sangre. Los niveles bajos de calcio provocan un aumento en la liberación de esta hormona.

### Objetivo:

Demostrar que la elevación de la PTH en sangre es equiparable a la presencia de cilindros granuloso en el sedimento urinario.

Se valorará la utilidad conjunta de la paratohormona y la presencia de cilindros granuloso.

### Caso Clínico:

Mujer de 62 años de edad acude al Servicio de Urgencias del Hospital Universitari Joan XXIII de Tarragona por presentar dolor de cabeza, prurito, náuseas, cansancio, pies y tobillos hinchados. Tras un examen más profundo la paciente concreta que ha perdido peso sin proponérselo, padece somnolencia, vómitos por la mañana y en ocasiones, sed excesiva.

### Análisis y Resultados:

En el análisis microscópico del sedimento de orina, se observan cilindros granuloso que se informan.

En el estudio se siguieron los resultados analíticos de la paciente durante cinco meses: con un total de ocho exploraciones se observó que en los tres primeros meses existe una relación entre los parámetros PTH, creatinina y calcio con la presencia de cilindros granuloso en el sedimento urinario.

Cuando sube la PTH bajan los niveles de calcio.

### Conclusión:

Los cilindros granuloso presentes en el sedimento urinario sugieren una enfermedad renal. Aunque por sí solos no evidencian una IRC, tras la determinación de PTH, creatinina y calcio se puede diagnosticar, junto con los síntomas propios de esta patología, la existencia de una IRC.

**PROCALCITONINA COMO MARCADOR DE SEPSIS EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS E IMPLANTACIÓN DE UN PROTOCOLO PARA SU USO**

*Autor/a/s:* Gómez Román, Carlota María; Torres Ulines, Soledad; Fernández Pérez, Berta; Fernández- Riejos, Patricia; Fabiani Romero, Fernando

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN MACARENA

*Provincia:* SEVILLA

*Correo electrónico del primer firmante:* carlota-go@hotmail.com

**Introducción:**

La procalcitonina (PCT) es un marcador bioquímico precoz de infección. Permite distinguir específicamente el cuadro clínico de sepsis de etiología bacteriana del cuadro de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS). La PCT es, por tanto, capaz de ayudar en la indicación de terapia antibiótica. La aplicación clínica de la PCT como marcador precoz de sepsis, está ampliamente validada en la literatura científica. En individuos sanos los niveles de PCT son prácticamente indetectables, aumentando en infecciones bacterianas. Se elaboró un protocolo asistencial para la determinación de PCT en el laboratorio de Urgencias, consensado con los servicios de Cuidados Críticos, Infecciosos y Pediatría de nuestro hospital. Como medida del cumplimiento del protocolo, se exigió a todos los facultativos peticionarios acompañar la solicitud analítica de una hoja interconsulta dónde se justificara la solicitud.

**Objetivos:**

Estudio del valor diagnóstico y pronóstico de la PCT como marcador de sepsis previo a la implantación y evaluación del protocolo instaurado en el laboratorio de Urgencias del Hospital Universitario Virgen Macarena para el uso de PCT como marcador de sepsis.

**Material y Método:**

Se incluyeron en el estudio 29 pacientes (9 mujeres y 20 hombres) ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital Universitario Virgen Macarena. La extracción de muestras para la determinación de la PCT se realizó en las primeras 72 horas desde el ingreso en UCI en tubos con gel separador. Las muestras fueron recepcionadas en el laboratorio de Urgencias y tras su centrifugación se analizaron en los autoanalizadores COBAS 6000 (Roche Diagnostic®) del mismo laboratorio. Así mismo, se ha evaluado el grado de cumplimiento del protocolo instaurado en el laboratorio de Urgencias y que define claramente las indicaciones autorizadas en nuestro Hospital para realizar la determinación analítica de la procalcitonina. La evaluación del mismo se realizó a partir de las 254 solicitudes de PCT recibidas en el laboratorio de Urgencias para el diagnóstico de pacientes con sospecha de sepsis. Los datos clínicos fueron obtenidos de la historia clínica del paciente, utilizando el programa Medix 3. A partir de las solicitudes de PCT se registraron la edad, fecha de solicitud, médico solicitante, servicio y motivo de la solicitud analítica.

**Resultados:**

Los valores medios de PCT según el grupo de diagnóstico de los pacientes incluidos en el estudio fueron: SIRS 0.18 ng/ml; Sepsis 0.93 mg/ml; Sepsis Severa 3.56 mg/ml; Shock Séptico 50.47 ng/ml. En cuanto a la evaluación del protocolo, el 31% de las peticiones recibidas procedieron del servicio de Cuidados Críticos. El 49% de todas las solicitudes recibidas, adjuntaban hoja interconsulta. El 31% de las peticiones correspondían a sospecha de sepsis de origen respiratorio. En un 41% de los casos, los pacientes se encontraban en un rango de edad de entre 60-90 años.

**Conclusión:es:**

La introducción de la procalcitonina como marcador diagnóstico y pronóstico de sepsis está plenamente justificada en la Unidad de Cuidados Críticos, Unidad de Neonatología e Unidad de Enfermedades Infecciosas del Hospital Universitario Virgen Macarena. Así mismo, la implantación de nuestro protocolo ha permitido optimizar el uso de PCT como marcador de sepsis y asegurar su eficacia diagnóstica

**DIABETES GESTACIONAL EN EL AREA ESTE DE MALAGA AXARQUIA**

*Autor/a/s:* PARDO MOLINA M<sup>ª</sup>BELEN; LOPEZ GUTIERREZ MONTSERRAT; DIAZ ZAYAS M<sup>ª</sup>DOLORES; GUERRERO CASASOLA AMALIA SANDRA; JIMENEZ JIMENEZ TERESA; IBÁÑEZ GARRÓTE SONIA M<sup>ª</sup>

*Centro de trabajo:* H.C. AXARQUIA

*Provincia:* MALAGA

*Correo electrónico del primer firmante:* belenalmayate@hotmail.com

**Resumen:**

Estudiar la prevalencia de diabetes gestacional durante el año 2010, en el Area Este de Málaga-Axarquía, confirmando la necesidad de esta prueba en el apoyo al diagnóstico clínico.

**Introducción:**

Estudio de prevalencia de diabetes gestacional, tras valoración y seguimiento del 100% de los test de O'Sullivan positivos durante el año 2010 y, correlacionados con el 100% de sobrecargas oral de glucosa en usuarias gestantes entre las 24 y 36 semanas de gestación, incluyendo a embarazadas con factores de riesgo para diabetes gestacional, para las que se amplía las semanas de gestación en las que está indicada la realización de esta prueba.

**Objetivo:**

Estudiar la prevalencia de diabetes gestacional con test de O'Sullivan positivo y sobrecargas de glucosa (100 gr) positivas durante el año 2010 en el Area Este de Málaga-Axarquía.

**Material y Métodos:**

Se han analizado 2474 test de O'Sullivan, de los cuales 443 resultaron positivos (mayores de 140 mg/dl), se les hizo sobrecargas orales de glucosa (100 gr) a 365 de estos 443, este estudio se les realizó a las embarazadas del Area Este de Málaga-Axarquía en el año 2010, realizando con ello un estudio de la prevalencia de la diabetes gestacional en esta comarca. Si en el test de O'Sullivan la glucemia a los 60 es mayor de 140 mg/dl, se realiza una sobrecarga con 100 gr de glucosa, si dos o más puntos dan resultados patológicos se confirma el diagnóstico.

El análisis ha sido realizado en la UGC Análisis Clínico del Area Este de Málaga-Axarquía, mediante técnica de espectrofotometría.

**Resultados:**

443 test O'Sullivan de embarazadas positivos de estos a 365 se les realizó una sobrecarga oral de glucosa (100 gr) confirmando el diagnóstico de diabetes gestacional en 62 casos.

**Conclusión:**

Los resultados obtenidos con el presente estudio indican una prevalencia de diabetes gestacional en el 17% de la población gestante del Area Este de Málaga-Axarquía en el año 2010.

Se trata de una prueba de apoyo al diagnóstico clínico altamente indicada dada las consecuencias que tiene la diabetes gestacional en la salud.

**Proteína plasmática A asociada al embarazo (PAPP-A) como factor predictor de riesgo de aborto en el primer trimestre de gestación**

*Autor/a/s:* María Ascensión Siso Pereiro. Rosario Ruiz Macías. Ignacio Peral Camacho. Antonio Moro Ortiz

*Centro de trabajo:* U.G.C. Laboratorio Análisis Clínicos (H.U. Nuestra Señora de Valme)

*Provincia:* Sevilla

*Correo electrónico del primer firmante:* ascensiso@gmail.com

**Introducción y Objetivos:**

En el Área Hospitalaria de Valme realizamos un Programa de Cribado Prenatal de Comosopatías mediante Cribado Combinado de 1º Trimestre utilizando marcadores bioquímicos (PAPP-A y BHCG-L) y ecográficos (Translucencia Nucal – TN). Es conocida la relación de alguno de estos marcadores (PAPP-A) con las complicaciones perinatales y del 3º trimestre de gestación.

El objetivo del trabajo es valorar la PAPP-A como factor predictor de riesgo de aborto en el 1º trimestre de gestación.

**Material y Métodos:**

Sujetos del estudio: 12918 embarazadas en primer trimestre de gestación (8 – 12 semanas) del Área Hospitalaria de Valme incluidas en el Programa de Cribado Prenatal de Cromosopatías en los dos últimos años.

Parámetros bioquímicos: PAPP-A

Cálculos: Múltiplos de mediana según la semana de gestación (MoM) y corrección por factores obstétricos (gemelaridad, tabaquismo, peso, paridad, técnicas reproducción asistida)

Metodología: Ensayo enzimático inmunométrico

Sistema: INMULITE 2000 de SIEMENS

Tratamiento estadístico: Para relacionar la variable dependiente aborto (sí/no) con la variable predictor, se generó un modelo de Regresión Logística Binaria y se calculó el odds ratio y respectivos intervalos de confianza. El análisis estadístico se realizó mediante el paquete estadístico SPSS 17.0 para Windows.

**Resultados**

1. De los 12918 embarazos en primer trimestre, 657 (5,08%) terminaron en aborto y 12261 (94,9%) llegaron a término.
2. Según el modelo de Regresión Logística Binaria, el resultado fue que las variables MoM de PAPP-A corregidos era predictor de riesgo de aborto en el primer trimestre de

gestación de aborto y presentó una Odds Ratio de 1,1 con un intervalo de confianza al 95% de 1.03 – 1.17. La significación estadística fue de  $p < 0.0005$

#### Conclusión:

1. Las variables MoM de PAPP-A es variable productora de aborto en nuestro estudio.
2. Estos resultados deben completarse con estudios más amplios.
3. Es necesario valorar las implicaciones clínicas y éticas de este resultado (necesidad de un control más estrecho de estas gestaciones, comunicación a la gestante de esta circunstancia...)

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 057**

#### **AUTOMATIZACION DE LOS FLUIDOS CORPORALES EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS DEL LABOARTORIO CLÍNIC ICS CAMP DE TARRAGONA.**

*Autor/a/s:* Pifarré Aranda, Sheila; Parejo Vico, Susana; Cruz López, Josefa y Sancho Vilellas, María Jesús

*Centro de trabajo:* Hospital Universitari Joan XXIII

*Provincia:* Tarragona

*Correo electrónico del primer firmante:* sila\_pifarre@hotmail.com

#### Introducción:

La utilización del SISME X-4000i, en el laboratorio de urgencias para analizar los diferentes fluidos corporales ha sido un gran avance a la hora de agilizar el trabajo. El analizador aplica tecnologías probadas de impedancia y citometría de flujo fluorescente que aseguran un conteo exacto en fluidos corporales.

#### Objetivos:

Comparar el conteo manual de líquidos serosos, líquidos sinoviales y Líquidos cefalorraquídeos (LCR), con el conteo por el Citiómetro de flujo XT-4000i para ver su fiabilidad y su error.

#### Material y Métodos:

Se hizo una selección de 20 muestras de diferentes pacientes y diferentes tipos de líquidos (LCR, líquido sinovial, líquido seroso...)

Proporciona conteos reportables de eritrocitos, glóbulos blancos y diferenciales de glóbulos blancos de dos partes: Polimorfonucleares (PMN) y Mononucleares (MN).

En nuestro caso nos centraremos en Leucocitos (PMN y MN)

El analizador aplica tecnologías de impedancia y citometría de flujo fluorescente que aseguran un conteo exacto en fluidos corporales.

#### Resultados:

Después de analizar 20 líquidos manualmente y por XT-4000i utilizando 85 microlandias se observó, mediante método de correlación de Pearson, que los Leucocitos y la fórmula manual tienen un coeficiente de correlación lineal de 0,941, que los Monocitos y la fórmula manual tienen la correlación de 0,653 y finalmente los Polimorfonucleares y la fórmula manual una correlación de 0,649.

– Se adjuntará gráficos

#### Conclusión:es:

La tecnología de citometría de flujo permite al XT-4000i el conteo de leucocitos y su clasificación en Mononucleares y Polimorfonucleares de una manera adecuada. Como consecuencia disminuye el número de intervenciones manuales y por tanto, menor error en los resultados de conteo.

El coeficiente de correlación es una medida de asociación entre dos variables y se simboliza con el estadístico "r"

Los valores de la correlación van de + 1 a - 1, pasando por el cero, el cual corresponde a ausencia de correlación. Estos dan a entender que existe una correlación directamente proporcional e inversamente proporcional, respectivamente. En nuestro caso "r" es: 0.941; 0.653 y 0.649.

Se mejoró el tiempo de respuesta y tiene una fuerte correlación

*Resumen Comunicación Científica - MATERIAL Y MÉTODOS: PANEL*

**Número: 061**

#### **MARCADORES DE CRIBADO PRENATAL DE ANEUPLOIDIAS: COMPORTAMIENTO EN GESTACIONES SUCESIVAS.**

*Autor/a/s:* DEL DEDO TORRE, M. ANGELES; RECIO ROMERO, M. NIEVES ; ORTEGA DE HEREDIA, M. DOLORES

*Centro de trabajo:* HOSPITAL CLINICO " SAN CARLOS" MADRID

*Provincia:* MADRID

*Correo electrónico del primer firmante:* mangeloseddedo@gmail.com

#### Introducción:

El triple cribado de cromosopatías en el primer trimestre de gestación, basado en la edad materna, la translucencia nucal (TN) y los marcadores bioquímicos Proteína Plasmática asociada a la Gestación (PAPP-A) y Fracción libre de la cadena Beta de la Hormona Gonadotropina Coriónica (fβHCG) lleva más de una década implantado en nuestro centro.

Ello nos permite disponer de un número importante de mujeres a las que hemos realizado el cribado en más de una gestación.

#### Objetivo:

El objetivo del presente estudio es analizar los marcadores utilizados en el programa de cribado, comprobar si existe correlación entre ellos de una gestación a otra y la influencia que esto pudiera tener en el rendimiento del programa de cribado.

#### Material y Métodos:

Se trata de un estudio retrospectivo de la correlación entre las variables del cribado combinado de cromosopatías realizado a pacientes con gestaciones sucesivas, entre julio de 1999 y diciembre de 2009. En este periodo hemos realizado un total de 21363 pruebas de cribado a 18684 mujeres. 16341 de ellas fueron estudiadas en una sola gestación y 2343 en más de una. Estas multigrávidas dieron lugar a 4852 gestaciones. Excluyendo las 53 aneuploidías aparecidas en 52 gestantes, se obtuvieron un total de 2291 pacientes multigestas sobre las que se llevó a cabo el estudio.

Se analizó la distribución de la edad materna y de las variables (PAPP-A, f HCG y TN) en cada gestación, y la correlación de estas últimas.

Calculamos la Sensibilidad (S) y la Tasa de Falsos Positivos (TFP) de la prueba de cribado en función del número de gestaciones, con especial atención a la TFP tras un FP previo.

#### Resultados:

Se hallaron 2291 casos de gestaciones sucesivas euploides; 2149 con dos gestaciones; 129 con tres gestaciones y 13 con cuatro o más gestaciones.

La edad en años (media+/- DS) de las pacientes en cada gestación (G) resultó ser: G1:29,8+/- 4,5; G2:32,7+/- 4,5; G3:33,7+/-4,4; G4:35+/-2,2.

La S y la TFP del cribado combinado, en cada grupo de gestantes, fueron las siguientes: G1: S = 73%, TFP = 2%. G2: S = 84,6%, TFP = 2,1%. G3: S = 100%, TFP = 0,7%. G4:S = 100% TFP = 14,3%.

No hubo diferencias estadísticamente significativas entre grupos.

Tras un FP en la primera gestación, la probabilidad de tener un FP en la segunda gestación era del 4,3%.

Sin embargo, esta diferencia no fue estadísticamente significativa.

#### Conclusión:

Pese a que la correlación existente entre los valores de PAPP-A y f-βHCG y el aumento de la edad en las siguientes gestaciones, genera un incremento de la TFP en el cribado, tras presentar un FP en una gestación anterior, la independencia de la TN entre gestaciones convierte en no significativo este incremento, lo que hace innecesario realizar correcciones en el cálculo de riesgo en estas pacientes.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 063**

#### **EVALUACIÓN DE "SEIS-SIGMA" EN EL CONTROL DE CALIDAD INTERNO DEL LABORATORIO CLÍNICO.**

*Autor/a/s:* GARCÍA PERELA, INMACULADA. SERRANO DE LA CRUZ PARDO, DOLORES. DÍAZ LÓPEZ, ANA.

*Centro de trabajo:* ANÁLISIS CLÍNICOS. HOSPITAL UNIVERSITARIO LA PRINCESA

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* igperela@hotmail.com

#### Introducción:

En los años 80, Westgard introdujo unas reglas de control de calidad, "Reglas de Westgard, Seis Sigma" (6S), con la finalidad de mejorar y optimizar la detección de errores y falsos rechazos. Aplicada al laboratorio clínico, la herramienta 6S tiene en cuenta el BIAS (error sistemático del laboratorio), el EA (error aleatorio o CV) y el ET (error total admisible o especificación de la calidad recomendada por las sociedades científicas (SEQC)).

#### Objetivos:

Dentro del sistema de gestión de calidad analítica de nuestro laboratorio, hemos aplicado la herramienta estadística (6S) con el objetivo de mejorar y gestionar ciertos parámetros realizados en el analizador ES-700 (Roche Diagnostic). Nos proponemos realizar un protocolo de control interno mediante el módulo Westgard Adviser™ del programa estadístico de calidad Uniti Real Tyme de Biorad.

## Material y Métodos:

Los analitos elegidos son: DHEA-S, Tiroglobulina, PTH Y Péptido C. Utilizamos controles de Biorad (Lyphochek © Inmunoassay Plus y Liquichek TM Specialty Inmunoassay) de tres niveles. Los resultados obtenidos día a día son volcados al programa Unitl Real Tyme. Los datos son enviados a fin de mes para su evaluación y comparación con otros laboratorios. Con los datos acumulados durante 6 meses hemos obtenido, utilizando el módulo el Westgard, el BIAS y el EA para cada prueba. Para cada analito se generaron reglas de rechazo y de número de controles adecuados para conseguir la calidad analítica deseable.

## Resultados:

Comparando nuestros resultados acumulados con los del grupo par, se generaron las reglas adecuadas que nos proporcionan los mínimos rechazos y al mismo tiempo la detección del máximo número de errores. Las reglas de rechazo generadas por el módulo Westgard Adviser™ son más estrictas que las utilizadas en nuestro laboratorio en el caso de DHEA-S y Tiroglobulina. Sin embargo, para el Péptido C y PTH las reglas son menos estrictas puesto que el Seis-Sigma es mayor de 3.

## Conclusión:

Podemos cuantificar la calidad de nuestros procesos y a partir de los valores medidos obtener una mejora continuada. Los beneficios que se obtienen con la aplicación del Seis-Sigma son la mejora de la rentabilidad y de la productividad, indicando reglas adecuadas para mejorar el EA y el ES y evitar falsos rechazos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 069

## EVALUACIÓN DEL ANALIZADOR DE GASES RAPID LAB 1200

Autor/a/s: Ponferrada Ariza, Elena y Laviana Senar, Xiana

Centro de trabajo: Hospital Clínico y Provincial de Barcelona

Provincia: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: kess87@hotmail.com

## Introducción:

Las mediciones de las magnitudes básicas como pH, pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub> y hemoglobina incluidas en el equilibrio ácido-base y en las gasometrías de muestras de sangre se hacen en analizadores de gases generalmente situados en las áreas de urgencias hospitalarias. Los avances tecnológicos de los últimos años han permitido incorporar a estos analizadores otras magnitudes como son las mediciones de iones (sodio, potasio, cloruro, etc.) y de diversos substratos (glucosa, lactato, creatinina, bilirrubina, etc.). Esta evolución tecnológica ha permitido además el desarrollo de analizadores con una mejor practicabilidad y fiabilidad analítica.

El Rapid Lab 1200 de Siemens Ref. es un analizador que integra sensores con bajo mantenimiento, elimina los calibradores gaseosos de bombonas externas y los sustituye por bombonas internas incorporadas al analizador, agrega un módulo de control de calidad que programa automáticamente los controles y gestiona la disponibilidad de los parámetros en base a los resultados de dicho control y especialmente incorpora un cooxímetro con bajo mantenimiento y una nueva tecnología de medida.

## Objetivos:

El objetivo de este trabajo es evaluar las características de fiabilidad de las magnitudes pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, pH y concentración de hemoglobina y evaluar alguna de las características de practicabilidad del analizador.

## Material y Métodos

Para el estudio de la precisión interserial se han usado los controles Complete 1 y 2 (Refs. 02017464, 07519905) de Siemens Diagnostics. Para ello se midió cada control una vez al día durante 20 días. A partir de estos datos se ha calculado también el error sistemático intralaboratorio comparando la media obtenida con el valor asignado por el fabricante. Estos resultados de imprecisión e inexactitud obtenidos se han comparado con las especificaciones de calidad recomendadas por la SEQC basadas en datos de variabilidad biológica, excepto para el pO<sub>2</sub> en el que no existen datos publicados.

## Resultados:

Los resultados de inexactitud e imprecisión del pH, pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub> y Hb obtenidos a partir de los controles se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

	C1			
Magnitud	Media	S	CV	Error sistemático
pH	7,16	0,01	0,1	0,29
pCO <sub>2</sub> (mm Hg)	73,38	1,66	2,26	-0,84
149,93	6,88	4,59	2,69	
Hb (g/dL)	17,88	0,15	0,82	1,61

	C2			
Magnitud	Media	S	CV	Error sistemático
pH	7,36	0,01	0,1	0,37
pCO <sub>2</sub> (mm Hg)	41,62	0,85	2,05	2,27
pO <sub>2</sub> (mm Hg)	101,45	5,32	5,24	-1,02
Hb (g/dL)	14,15	0,08	0,55	1,04

Las ecuaciones de regresión obtenidas a partir del análisis de muestras de pacientes son las siguientes:

pH: Siemens 1200 = 1,039 [0,995 a 1,074] . Siemens 800 -0,271 [-0,53 a 0,051]

pCO<sub>2</sub>: Siemens 1200 = 1,011 [0,967 a 1,056] . Siemens 800 -2,09 [-4,19 a -0,43]

pO<sub>2</sub>: Siemens 1200 = 0,974 [0,961 a 0,982] . Siemens 800 + 2,99 [2,39 a 3,47]

Hb: Siemens 1200 = 0,820 [0,706 a 0,938] . Siemens 800 +2,25 [0,88 a 3,45]

Hb: Siemens 1200 = 0,943 [0,839 a 1,026] . Pentra + 0,91 [0,04 a 2,01]

## Conclusiones:

Los inexactitud e imprecisión del pH, pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub> y Hb obtenidos a partir de los controles no superan las especificaciones de calidad.

El estudio de inexactitud relativa con muestras de pacientes muestra lo siguiente:

pO<sub>2</sub>: existen diferencias sistemáticas proporcionales y constantes.

pCO<sub>2</sub>: existen diferencias sistemáticas constantes.

pH: no existen diferencias sistemáticas.

Hemoglobina: cuando se compara con el Rapid Lab 800 existen diferencias sistemáticas proporcionales y constantes mientras que cuando se compara con el Pentra TX 120 existen diferencias constantes.

Este estudio muestra que los resultados obtenidos con el Rapid Lab 1200 son mucho más parecidos a los obtenidos con el contador.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 072

## UTILIDAD DE LOS MARCADORES CARDIACOS.

Autor/a/s: MARÍA JESÚS PRO JIMÉNEZ, INMACULADA ORELLANA MORALES, JOSE DE LA TORRE NAVARRETE, MARÍA BELÉN PARDO MOLINA Y SONIA MARÍA IBÁÑEZ GARROTE.

Centro de trabajo: HOSPITAL COMARCAL DE LA AXARQUÍA

Provincia: MÁLAGA

Correo electrónico del primer firmante: chusa15@hotmail.com

## INTRODUCCIÓN:

Los marcadores cardíacos son sustancias liberadas hacia la sangre cuando se produce un daño al corazón. La medida de estos marcadores es útil para diagnosticar, evaluar y monitorizar a pacientes con sospecha de síndrome coronario agudo. Entre los síntomas se incluye dolor y opresión torácicos, náuseas y/o dificultad para respirar. Estos síntomas se asocian a infartos de miocardio y a anginas de pecho, aunque también pueden observarse en otras situaciones que no afecten al corazón.

Los marcadores cardíacos se solicitan para detectar precozmente un síndrome coronario agudo y evaluar la severidad, de manera que se pueda iniciar el tratamiento adecuado de inmediato.

## OBJETIVO:

Estudiar los valores de Troponinas entre 14 y 50 nanogramos/litro, considerados como dudosos para poder ver que tipo de patologías presentan los pacientes estudiados.

## MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo desde el 1 al 31 de Agosto de 2011, en el cual, se han estudiado un total de 114 muestras correlativas pertenecientes a 65 pacientes (54,2% varones cuya edad media es de 75,2 años y 45,8% mujeres cuya edad media es de 79,7 años) atendidos en el Área de Urgencias del Hospital Comarcal de la Axarquía.

La técnica utilizada es un Tests inmunológico in Vitro para la determinación cuantitativa de Troponina T cardíaca en suero y en plasma humano.

## RESULTADOS:

Hemos obtenido que el 1,53% corresponden a Infarto Agudo de Miocardio, el 66,34% a otras alteraciones cardíacas y el resto a otro tipo de patologías no relacionadas con enfermedades cardíacas, como Diabetes Mellitus (15,38%) o Hipertensión Arterial (9,23%).

## CONCLUSIÓN:

El 54,2% de los varones y el 45,8% de las mujeres presentan Troponina T en el rango

de valores comprendidos entre 15 y 50 nanogramos/litro. Un 18,07% de los varones estudiados y un 23,74% de las mujeres presentan la Troponina T entre 30 y 50 nanogramos/litro.

Solo el 1,5% de los pacientes comprendidos entre el rango anteriormente citado presentan Infarto Agudo de Miocardio.

Como consecuencia de todo lo anteriormente expuesto, la especificidad para descartar un Infarto Agudo de Miocardio entre 15 y 50 nanogramos/litro es superior a 98%.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 074**

### **COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS PARA LA MEDIDA DE LITIO**

*Autor/a/s:* María Gaietana Jiménez Serra, Remedios Moreno Martínez, María del Carmen Barroso Portillo, Belén Arroyo Montiel, Concepción Ruiz de la Fuente Alba, Ariana Ferri Font.

*Centro de trabajo:* LABORATORI L'HOSPITALET (ICS)

*Provincia:* BARCELONA

*Correo electrónico del primer firmante:* gaietana@hotmail.com

#### **Introducción:**

El litio es un agente farmacológico utilizado en el tratamiento de Psicosis manícodepresivas.

Su determinación es útil para el seguimiento y la monitorización de los pacientes tratados con carbonato de litio (Plenur®) en el curso de la depresión bipolar (maníaco-depresiva).

Las concentraciones séricas de litio se miden primordialmente para cerciorarse del cumplimiento terapéutico del paciente y evitar intoxicaciones.

#### **Objetivos:**

En nuestro laboratorio, la determinación del litio en suero, se realiza actualmente por fotometría de llama y en este estudio se ha valorado la incorporación de la magnitud en el COBAS 711 donde se utiliza un método analítico basado en espectrofotometría.

Nuestro objetivo es realizar un estudio comparativo, valorando además la viabilidad técnica, organizativa y la practicabilidad de la medida del litio por espectrofotometría.

#### **Material y Método:**

Los analizadores de Laboratorio utilizados son el Fotómetro de Llama (Instruments Laboratory®) y COBAS 711 (ROCHE®).

Como material de control los facilitados por ROCHE ClinChem Multi Nivel 1 y Nivel 2. Se analizaron 67 muestras de pacientes con los métodos de fotometría de llama y espectrofotometría y para la comparación se utilizó la regresión no paramétrica de Passing-Bablok.

Por otro lado, las especificaciones de calidad a aplicar son: Imprecisión  $\leq 5\%$  y Error Sistemático  $\leq 5\%$  Para el estudio de la Imprecisión se utilizan 2 muestras control analizadas 5 veces. Para el estudio del Error Sistemático se analizan las mismas muestras y se comparan con el valor diana indicado por el fabricante.

Para valorar la practicabilidad se estudia la sistemática de trabajo más adecuada y el calendario óptimo, incluyendo la duración de la técnica, los cambios en las tareas de los técnicos, la eliminación de alícuotas, etc.

#### **Resultados:**

Estudio de la Imprecisión: en las muestras control Intrasérie se obtuvo un CV de 1.36% para el Nivel 1 y 1.22% para el Nivel 2 y en las muestras control Intersérie 4.60% para el Nivel 1 y 1.43% para el Nivel 2.

Estudio del Error Sistemático: El ES para el Nivel 1 fue de 1.00% y -1.63% para el Nivel 2.

Estudio comparativo con pacientes: En la comparación de regresión de Passing-Bablok se ha obtenido la siguiente ecuación:

$y = -0.033 - 1.022x$  Pendiente: 1.022[1, 1.065] Ordenada en el origen: 0.033[-0.066, -0.020]

siendo  $y = Li$  (espectrofotómetro) y  $x = Li$  (fotómetro).

El coeficiente de correlación es 0,990.

Durante el estudio no se ha detectado ninguna incidencia o inconveniente para el cambio de método.

#### **Conclusión:**

Los resultados obtenidos cumplen los objetivos marcados en cuanto a imprecisión y error sistemático.

La correlación y la pendiente obtenida es correcta. Se observa una diferencia constante en la ordenada del origen que no es clínicamente significativa.

La practicabilidad es excelente. El calendario no será diario (dos días/semana) y se valora positivamente poder prescindir del fotómetro de llama que tenía diversos inconvenientes organizativos: dependencia de un técnico, utilización de alícuotas y tiempo de duración de la técnica más largo.

Por todo ello, se valora como viable el proyecto de cambio de método del Litio por espectrofotometría.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 081**

### **ESTUDIO DE LA VITAMINA D. En la población femenina del Hospital Royo Villanova de Zaragoza y su relación con la Osteoporosis.**

*Autor/a/s:* Gonzalez Macho, María Purificación. Méndez García, Cristina. Gavín Gonzalez, Rosa María .

*Centro de trabajo:* HOSPITAL ROYO VILLANOVA

*Provincia:* ZARAGOZA

*Correo electrónico del primer firmante:* purigim68@hotmail.com

#### **Introducción:**

La osteoporosis, es un trastorno del esqueleto, caracterizado por una alteración de la resistencia ósea que predispone a un mayor riesgo de fractura.

Según la OMS, se trata de un problema de salud pública global, que afecta a más de 200 millones de personas, la mayoría del sexo femenino. El eje PTH-Vitamina D-Calcio, es el principal responsable de mantener la homeostasia ósea. En la menopausia, este equilibrio óseo, se va a ver alterado, teniendo como consecuencia un aumento del recambio óseo, una pérdida acelerada del esqueleto y un mayor riesgo de fracturas.

#### **Objetivos:**

Ante la reciente implantación de la determinación de Vitamina D total en nuestro laboratorio, y debido al papel fundamental que desempeña en el metabolismo óseo, (aumenta la absorción de calcio y fósforo a nivel intestinal y facilita el remodelado óseo), realizamos el estudio de las determinaciones de Vitamina D durante el segundo semestre de 2011, en la población femenina de nuestro hospital, abarcando tres meses de mayor luz solar y tres con menor intensidad. Posteriormente nos centramos en las mujeres mayores de 50 años, grupo en el que aumenta la incidencia de osteoporosis.

#### **Material y Métodos**

De julio a diciembre de 2011 se realizaron en nuestro laboratorio 380 determinaciones de Vitamina D total en suero, 301 correspondientes a la población femenina del Hospital Royo Villanova. La analítica se realizó con el módulo e-601 del analizador Cobas 6000 (Roche Diagnostics) mediante electroquimioluminiscencia, proceso muy sensible en el que se generan especies reactivas en la superficie de un electrodo a partir de precursores estables (rutenio), volviendo luego al estado basal mediante una reacción quimioluminiscente.

La exportación de datos se realizó desde el sistema informático de laboratorio (Modulab) y el análisis estadístico de los mismos con Microsoft Excel.

#### **Resultados:**

Encontramos que en el total de nuestra población femenina, la media de edad es de 50,45 años con una concentración media de Vitamina D de 26,49 nanogramos/mililitro, cifra inferior a la concentración deseable de Vitamina D (>30 nanogramos/mililitro).

Posteriormente nos centramos en las mujeres mayores de 50 años, para las que encontramos una concentración media de Vitamina D de 25,04 nanogramos/mililitro, y en las mujeres mayores de 70 años, con una concentración media 21,66 nanogramos/mililitro.

#### **Conclusión:**

A la vista de estos resultados, podemos concluir, que la cantidad de Vitamina D en la población femenina de nuestro hospital, es menor de la deseada, acentuándose su déficit en mujeres > de 50 años y aumentando, la falta de Vitamina D, en mujeres > de 70 años. Complicaciones:

– Disminución de la calidad de vida con dependencia funcional importante. Riesgo de fracturas, con mortalidad de un 6% en el postoperatorio y el 20% de los pacientes mueren en los seis primeros meses. Los costos del tratamiento de la osteoporosis son enormes y la tendencia futura es, de que estos incrementen. Teniendo en cuenta, que la osteoporosis se ve incrementada, merece la pena hacer un seguimiento de la Vitamina D en nuestro Hospital Royo Villanova de Zaragoza.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 082**

### **Formas poliméricas de cadenas ligeras libres en suero. Presentación de dos casos**

*Autor/a/s:* Ares Vidal Olga, Sánchez Rodríguez Ernestina, Illana Cámara Francisco, Arroyo Fernández Manuel

*Centro de trabajo:* Hospital Clínico San Carlos

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* olgares54@hotmail.com

#### **Introducción:**

La concentración en suero de las cadenas ligeras libres (CLL) depende del equilibrio entre su producción por las células plasmáticas y su aclaramiento renal. La velocidad de

filtración glomerular depende de su tamaño molecular siendo la CLL lambda, en forma de dímero, filtrada más lentamente que la CLL kappa, en forma de monómero. Una vez filtradas son reabsorbidas y catabolizadas en el túbulo proximal. El incremento de la producción de CLL monoclonales en las gammopatías monoclonales da lugar a un aumento de la carga filtrada y puede llegar a saturar la capacidad de reabsorción tubular con la aparición de proteinuria de Bence Jones.

Los pacientes con secreción de proteína monoclonal de cadena ligera no suelen presentar en el trazado electroforético en suero una banda monoclonal, siendo necesario métodos sensibles como la inmunofijación para su detección. Se han descrito no obstante formas poliméricas de CLL monoclonales en suero, cuyo mayor tamaño molecular dificulta su aclaramiento renal y da lugar a la presencia de componente monoclonal (CM) de CLL visibles en el proteinograma. Objetivo: presentar dos casos de pacientes con componentes monoclonales en suero correspondientes a cadena ligera libre (kappa y lambda) con escasa o nula proteinuria de Bence Jones que podría relacionarse con un proceso de agregación de cadenas ligeras libres en suero.

### Material y Métodos

Se realizó el estudio en ambos pacientes en muestras de suero y orina de 24 horas.

- El proteinograma en suero y en orina se realizó por electroforesis capilar en el equipo Capillarys (Sebia, Evry, Francia). Las muestras de orina se dializaron antes de su análisis (Amicon ultra-4 Millipore, tampón de diálisis Sebia) para la eliminación de sustancias interferentes.

- La identificación del CM en suero se hizo por inmunotipado en el sistema Capillarys. La inmunofijación se realizó en el equipo Hydrasys (Sebia) con anticuerpos específicos frente a inmunoglobulina (Ig) A, G, M, D y E, así como para cadenas kappa y lambda total y kappa y lambda libre. Las muestras se procesaron de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

- La medida del CM en suero y orina se realizó integrando el área bajo la curva del CM y teniendo en cuenta la concentración de proteínas totales.

- Las cadenas ligeras libres en suero y las inmunoglobulinas se midieron por inmunonefelometría (Freelite, Binding Site, Birmingham, UK; Beckman Coulter, Brea, USA) en un Immage 800 (Beckman Coulter).

- Las proteínas totales en suero (método Biuret) y orina (método rojo de pirogalol) y creatinina (método Jaffé cinético) se midieron en un analizador AU 2700 (Beckman Coulter).

### Resultados:

**Caso 1.** Se detectó un CM en suero en la región beta identificado por inmunofijación como cadena ligera libre lambda. La concentración era de 13.2 g/L. En orina se detectó e identificó proteína de Bence Jones lambda, con una concentración de 300 mg/24 horas. Las concentraciones de las CLL en suero fueron de 10.4 mg/L para kappa y de 18500 mg/L para lambda. La creatinina en suero fue de 0.90 mg/dL.

**Caso 2.** Se detectó un CM en suero en la región gamma. El inmunotipado no pudo identificarlo inequívocamente y sugirió la presencia de un doble CM. La inmunofijación identificó dos CM muy próximos, uno de CLL kappa y otro de Ig G kappa. La concentración era de 2.6 g/L y de 9.0 g/L respectivamente. No se detectó proteinuria de Bence Jones. La medida de la CLL kappa fue de 9060 mg/L y de 7.7 mg/L para lambda. Las inmunoglobulinas fueron: Ig G 1590 mg/dL, Ig A 154 mg/dL, Ig M 54 mg/dL. La creatinina en suero fue de 0.76 mg/dL.

### Conclusiones:

- Ambos pacientes presentaron una función renal conservada. La presencia de CM de cadenas ligeras libres en suero junto a la ausencia o concentraciones bajas de proteína de Bence Jones en orina, sugiere que la proteína monoclonal está formada por una forma polimérica de gran tamaño molecular que impide su excreción normal a nivel renal.

- La diferencia entre la medida del CM y la medida de las CLL en suero podría deberse a una sobreestimación en la medida nefelométrica por la presencia de formas poliméricas de las CLL que aumentan la reacción de inmunoprecipitación.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 086

### LA PROCALCITONINA COMO MARCADOR DE INFECCION

Autor/a/s: GUERRERO CASASOLA, AMALIA SANDRA; DIAZ ZAYAS M<sup>o</sup> DOLORES; LOPEZ GUTIERREZ MONTSERRAT; DOMINGUEZ LOPEZ M<sup>a</sup> TERESA; JIMENEZ JIMENEZ TERESA

Centro de trabajo: H. AXARQUIA

Provincia: MALAGA

Correo electrónico del primer firmante: maliasandra65@yahoo.es

### Introducción:

En los últimos años la determinaciones de procalcitonina ha emergido como un importante marcador específico de infección bacteriana invasiva grave (morbilidad).

La procalcitonina aumenta en el curso de infecciones bacterianas pero no aumenta en las infecciones de origen viral.

En individuos sanos, la concentración plasmática de procalcitonina es inferior a 0,5 ng/ml, mientras que puede alcanzar hasta los 1.000 ng/ml en caso de sepsis o shock séptico.

### Objetivos:

El objetivo de este estudio es establecer a partir de que valores de procalcitonina encontramos germen en diferentes tipos de cultivos. Los cultivos que utilizamos son para urocultivos las placas cled, para hemocultivos medio aerobios y anaerobios (1<sup>a</sup> toma y 2<sup>a</sup> toma de cada medio), para coprocultivos agar sangre, campylobacter, XLD, yersinia, selenito y SS, para la siembra de LCR agar sangre y chocolate, caldo BHL, para siembra de frotis faringeos agar sangre y chocolate, CNA (cultivo anaerobio), exudado de herida lo sembramos en agar sangre (anaerobio y aerobio) y chocolate, SCS (anaerobio), en tioglicolato, Manconkey. Dicho estudio lo realizamos en el Area de Salud Este de Málaga – Axarquía.

### Material y Método:

Se realiza un estudio de 100 muestras de procalcitonina obtenidas por punción venosa a pacientes atendidos en H.C. Axarquía, dichas determinaciones se realizaron a partir de suero por el método de Electroquimioluminiscencia (ECLIA).

Este método de detección esta basado en la interacción entre un quelato de rutenio y tripropilamida sobre la superficie de un electrodo de platino. Para desencadenar una reacción electroquimioluminiscente no se requiere mas que una simple excitación eléctrica, la emisión de luz se mide con un fotomultiplicador.

De las dichas procalcitoninas obtenidas 53 se le estudio algún tipo de aislamiento bacteriano siendo 22 cultivos positivos y 31 cultivos negativos.

### Resultados:

Procalcitonina > ó = de 0,5ng/ml	Procalcitonina < de 0,5ng/ml	Procalcitonina > ó = de 0,5ng/ml	Procalcitonina < de 0,5ng/ml
13 con cultivos positivos	9 con cultivos positivos	11 con cultivos negativos	20 con cultivos negativos

De las procalcitoninas > ó = de 0,5 ng/ml con cultivos positivos los germen detectados fueron:

- Hemocultivos:

- Serratia marcescens, staphylococcus epidermis, echerichia coli, streptococcus pneumoniae.

Urocultivos:

- Echerichia coli, citrobacter freundii, enterobacter aerogenes.

Exudado de herida:

- Pseudomonas aeruginosa, serratia marcescens.

Frotis nasofaríngeos:

- Candida albicans.

- De las procalcitoninas > ó = de 0,5 ng/ml con cultivos negativos los cultivos realizados fueron: hemocultivos a todas, urocultivos a cuatro de las 11 y coprocultivos a 2 de las 11 citadas.

### Conclusión:

La procalcitonina es un método específico para el diagnóstico de la sepsis severa, tiene utilidad clínica en el diagnóstico, pronóstico y guía terapéutica en el tratamiento de la infección bacteriana grave.

Por otra parte, es importante tener en cuenta que la procalcitonina no es un marcador muy precoz de infección, lo que hace necesario el seguimiento de pacientes con sospecha clínica, mediante determinaciones seriadas, de modo que la procalcitonina adquiera utilidad pronóstica. Cabe destacar como principales limitaciones:

- Su concentración no aumenta, o sólo levemente, cuando se trata de una infección confinada a un órgano o sin manifestaciones sistémicas, siendo poco útil en este tipo de infecciones, en la que la proteína C reactiva aportará más información. Tampoco es útil en la monitorización de infecciones víricas ni de enfermedades inflamatorias crónicas.

- Su concentración disminuye en suero cuando el tratamiento es adecuado, pero esto no indica el fin de la infección, solo que la respuesta séptica parece estar bajo control.

En resumen, la procalcitonina es un marcador prometedor especialmente útil para el seguimiento diario de procesos infecciosos (bacterianos) o de riesgo, sobre todo en pacientes críticos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 087

### IMPACTO DE LA INTRODUCCIÓN DE LA TROPONINA T ULTRASENSIBLE EN EL DIAGNÓSTICO DE INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO

Autor/a/s: García-Tirador Francisco, Mauri María del Carmen, Fernández-Riejos Patricia, Fabiani Fernando

Centro de trabajo: H. U. Virgen Macarena

Provincia: Sevilla

Correo electrónico del primer firmante: pacorubiato@hotmail.com

## Introducción:

El diagnóstico bioquímico del infarto agudo de miocardio (IAM) se realiza con la detección del ascenso de las troponinas cardíacas en el suero del paciente. En los últimos años ha aparecido en el mercado un nuevo ensayo ultrasensible de determinación de troponina T con el fin de detectar precozmente el ascenso en suero de la proteína.

## Objetivo:

El objetivo de este trabajo es valorar si la introducción de esta técnica en nuestro laboratorio ha supuesto una mejora en la atención terapéutica al paciente con sospecha de IAM.

## Material y Métodos:

El ensayo de determinación de troponina T ultrasensible (TnThs) fue introducido en nuestro laboratorio en Marzo de 2011. Entre el 23 y 31 de Enero de 2012, se seleccionaron 150 muestras de sangre de pacientes con sospecha de IAM que se recibieron en nuestro laboratorio. Éstas fueron centrifugadas a 3500 rpm durante 7 minutos. A continuación se procedió a la determinación de la concentración de troponina T cardíaca en el suero por duplicado mediante dos técnicas: troponina T 4ª generación (TnT) y TnThs. La determinación de TnThs en el Laboratorio de Urgencias del Hospital Universitario Virgen Macarena se realiza mediante inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (ECLIA) (Roche Diagnostics) y la determinación de TnT 4ª generación se realizó mediante inmunoensayo de electroquimioluminiscencia del mismo proveedor. Ambas técnicas fueron calibradas y controladas analíticamente, previa a la realización de la misma.

## Resultados:

Los resultados de las determinaciones se dividieron en los tres rangos de decisión aconsejados para la técnica TnThs (<14 ng/ml, 14-50 ng/ml y >50ng/ml). Éstos fueron utilizados como punto de partida para evaluar la concordancia entre las técnicas. Atendiendo al ensayo de Tn T 4ª generación, son positivos los resultados >0,05 ng/l. Si empleamos el ensayo de TnThs, son positivos los resultados >50ng/ml y requieren seriación de enzimas los resultados que se encuentran en zona gris 14-50 ng/ml. Los resultados fueron concordantes en el 55% de los casos. Si exploramos el grupo "negativo" (<14 ng/ml), el 80% de las valoraciones son iguales. El ensayo de TnThs requiere seriación de la proteína para confirmar diagnóstico en el 98% de las determinaciones. El 32% de los pacientes no sería diagnosticado utilizando la técnica de Tn T 4ª generación

## Conclusiones:

Con la introducción de TnThs han aumentado el número de falsos positivos en la evaluación bioquímica del infarto agudo de miocardio. También se consigue confirmar bioquímicamente la existencia de un IAM más precozmente que con la Tn T 4ª generación. La detección precoz del IAM permitirá una intervención terapéutica pronta que repercutirá en la evolución clínica del paciente.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 088**

## COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE MEDIDA PARA EL ÁCIDO LÁCTICO. MÉTODOS FOTOMÉTRICOS Y AMPEROMÉTRICOS.

*Autor/a/s:* Inmaculada Porcel Jabalera, Vanesa Criado Casas, Esther Cubero Hernández, Susana Quero Molina, Helia Cerdá Urbano, Silvia Terzan Molina y Javier Mercé Muntañola.

*Centro de trabajo:* Hospital de la Santa Creu i Sant Pau

*Dirección del primer firmante:*

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* Prana.7@hotmail.com

## Introducción:

El ácido láctico proviene del metabolismo de la glucosa en ausencia de oxígeno disponible, es decir, en un ejercicio anaeróbico. En el individuo entrenado este ácido láctico se reutiliza y no hay mayor problema.

Pero cuando seguimos con intensidad un ejercicio, el ácido láctico comenzará a acumularse al no darle tiempo al organismo a retirarlo. Esto provoca la acidificación de fibras musculares, que tiene dos consecuencias importantes:

Se inhiben las enzimas encargadas de metabolizar la molécula de glucosa para obtener energía, por lo que se nos corta el riego energético de esta vía. Se impide que el calcio se una a las fibras musculares y consecuentemente se impide la contracción.

## Objetivo:

En nuestro laboratorio tenemos la posibilidad de medir el ácido láctico con dos instrumentos diferentes, el Architect plus ci 16200, método de medida potenciométrico, y el ABL 800 Flex, método de medida amperométrico.

El objetivo es comparar los resultados obtenidos por ambos métodos y ver si son intercambiables entre sí.

## Material y Método:

En nuestro laboratorio la medida del ácido láctico se realiza en un autoanalizador Architect

plus ci 16200, en el cual esta medida es potenciométrica, haciéndose la lectura a una longitud de onda primaria de 548 y una secundaria de 700.

La muestra es obtenida en un tubo con un inhibidor glucolítico, en este caso con fluoruro sódico (30 mg), con un volumen aproximado de aspiración de 7 ml, en vidrio con fondo de doble espesor y tapa de seguridad HEMOGARD, de 13 x 100 mm.

Recientemente hemos incorporado a nuestro laboratorio un nuevo instrumento de medida del ácido láctico en sangre total, un ABL 800 Flex, en el cual la medida del ácido láctico es amperométrica, midiéndose la magnitud de una corriente eléctrica entre una cadena de electrodos, que a su vez resulta proporcional a la concentración de la sustancia que es oxidada o reducida en un electrodo en cadena.

La muestra se obtiene en una jeringa heparinizada.

## Resultados:

Se ha comparado el resultado de las muestras pasadas por el ABL 800 FLEX(sangre total) con los resultados obtenidos en el Architect plus ci 16200 ( plasma fluoruro)

El método estadístico utilizado es el de Bland-Altman que propone un gráfico sencillo para evaluar la concordancia entre dos métodos de medida. Consiste en representar la diferencia entre cada pareja de valores frente a la media de cada pareja. En el caso de que no haya error sistemático los puntos se distribuirán de forma aleatoria a uno y otro lado de la recta correspondiente a la diferencia 0 entre medidas.

## Conclusiones:

Después de representar los resultados en una gráfica observamos que la mayoría de los puntos están por encima de la recta correspondiente a la diferencia 0. Con lo que podemos concluir que sí existe error sistemático y por lo tanto los métodos no son intercambiables.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 089**

## CEA, CA 19-9 Y CA 72-4 COMO PARÁMETROS PREDICTIVOS EN PACIENTES CON CÁNCER GÁSTRICO.

*Autor/a/s:* Lorenzo Bellido Ana M, Molpeceres Hernandez Angela, Aguirre Gervás Beatriz, Bustamante Bustamante Rosa, Ramos Gutierrez Epifanio.

*Centro de trabajo:* Hospital Clínico Universitario. Servicio de Análisis Clínicos.

*Provincia:* Valladolid

*Correo electrónico del primer firmante:* analoreno@hotmail.com

## Introducción:

El antígeno carcinoembrionario (CEA), el antígeno carbohidrato (CA 19-9) y el antígeno del cáncer 72-4 (CA 72-4) se encuentran en el suero como glicoproteínas y se utilizan habitualmente como marcadores tumorales en las neoplasias gástricas. Tienen un valor establecido como factores pronósticos, sin embargo la relevancia clínica de los niveles séricos preoperatorios de estos marcadores en el cáncer gástrico es poco conocida.

## Objetivo:

Evaluar la importancia de los valores séricos preoperatorios de estos marcadores en el cáncer gástrico, en pacientes con diferentes estadios de la enfermedad.

## Material y Métodos:

Se estudia de forma prospectiva los sueros de 32 pacientes, 25 varones y 7 mujeres. 13 sueros de pacientes en estadios iniciales (I y II) y 19 en pacientes con enfermedad avanzada (estadios III y IV). Como niveles de corte hemos considerado los siguientes: para CEA (> 5 ng / ml), CA 19-9 (> 37 U / ml) y CA 72-4 (> 4 U / ml). Estos niveles se correlacionaron con el estadio patológico y la histología.

Para la determinación cuantitativa de los niveles de CEA y CA 19-9 se realiza un inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas en el autoanalizador Architect de la casa Abbott. Los niveles del CA 72-4 se determinan en el inmunoanalizador Cobas e 601 de la casa Roche que emplea dos anticuerpos monoclonales.

## Resultados:

La tasa de positividad preoperatoria de CEA / CA 19-9 fueron 0 / 14% y de un 10 / 26% en estadios tempranos y avanzado de la enfermedad, mientras que los valores obtenidos con el CA 72-4 en pacientes con estadios iniciales y en pacientes con enfermedad avanzada fueron del 0% y 56% respectivamente.

Globalmente la combinación de estos tres marcadores fue predictiva de enfermedad avanzada en un 62% de los sueros estudiados. Los niveles séricos de estos marcadores no se correlacionaron con el tipo histológico de cáncer gástrico

## Conclusiones:

El nivel sérico preoperatorio de CA 72-4 tiene un valor predictivo de enfermedad avanzada en pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico muy superior al de CEA y CA 19-9.

Sin embargo observamos que la utilización conjunta de los tres marcadores estudiados, aumenta la sensibilidad y especificidad del CA 72-4 como parámetro predictivo en las neoplasias gástricas.

**“PREVALENCIA DE HIPOTIROIDISMO SUBCLÍNICO EN EL ÁREA DE SALUD LAS PALMAS NORTE DE GRAN CANARIA.”**

*Autor/a/s:* Juan Carlos Millán Martín, Gloria Isabel González Piris, Adelaida Aguiar Gil, Candelaria Molina Ramírez.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín

*Provincia:* Las Palmas

*Correo electrónico del primer firmante:* jcmm59@hotmail.com

**Introducción:**

El hipotiroidismo subclínico se caracteriza por el hallazgo de cifras elevadas de hormonas tiroestimulante (TSH) con niveles normales de hormonas tiroideas, en pacientes generalmente asintomáticos. Es, por tanto, un concepto bioquímico. A pesar de ser un problema frecuente, su manejo (cribado, diagnóstico, tratamiento) permanece aún controvertido.

**Objetivo:**

Estudiar la prevalencia de hipotiroidismo subclínico en aquellos pacientes pertenecientes al área de salud de Las Palmas-Norte a los que se ha solicitado a nuestro laboratorio una determinación de TSH.

**Material y Métodos:**

Se trata de un estudio observacional descriptivo en el que se han introducido 52.137 pacientes de nuestra área de salud, a los que se les ha solicitado, por vía ordinaria, estudio tiroideo (niveles de TSH) en los primeros cinco meses del año 2011. Aquellos con un resultado de TSH >5 µUI/mL, se les ha determinado la concentración de tiroxina libre (T4L). Las determinaciones analíticas se han realizado con un inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas en el sistema automatizado Architect i2000SR de Abbott. La media de la edad fue 51,4 ± 19,7 años con un 65,6% de mujeres y un 34,4% de hombres. Los pacientes se han dividido en tres grupos: < 18 años (n = 3.116 que representan el 6% del total), entre 18 y 65 años (n = 33.935 que constituye el 65,1% del total) y > 65 años (n = 15.086 que son un 28,9% del total). Los valores que hemos utilizado para definir el hipotiroidismo subclínico son TSH > 5 µUI/mL y T4L entre 0,7 y 1,48 ng/dL. Los resultados han sido recogidos en una tabla de Microsoft Excel. Para el tratamiento estadístico de los datos se ha empleado el paquete estadístico SPSS v.15.

**Resultados:**

La prevalencia de hipotiroidismo subclínico en el conjunto de la población estudiada es de un 5,86%, correspondiendo a un 7,11% del total de mujeres y a un 3,49% del total de hombres. Por edades, la prevalencia es de: 3,15% en < 18 años, 5,35% en el grupo de edad de 18-65 años y de un 7,59% en > 65 años.

**Conclusiones:**

A la vista de los resultados obtenidos podemos concluir que la población a estudio presenta una prevalencia de hipotiroidismo subclínico acorde a la bibliografía revisada. Se observa una mayor prevalencia en el sexo femenino y en el grupo de mayor edad.

**ESTUDIO HORMONAL EN LOS TRASTORNOS ALIMENTARIOS**

*Autor/a/s:* MARIA JOSE INGELMO VEROZ, XIOMARA MARÍA CONCEJO IZQUIERDO, MARIA JOSEFA DE CABO MORALES, MARIA JESUS RODRIGUEZ GARCIA.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA

*Provincia:* SALAMANCA

*Correo electrónico del primer firmante:* majoinve@hotmail.com

**Introducción:**

Existe una nueva epidemia que está amenazando la salud, e incluso, la vida de los adolescentes, y no tan adolescentes. Se trata de enfermedades crónicas y progresivas, que se manifiestan a través de la conducta alimentaria. Es una gama de síntomas variados, en la que influyen varios factores, entre los que destacan los biológicos, los psicológicos, los familiares, los sociales...Las enfermedades que se estudian en este trabajo son la anorexia, la bulimia y otros trastornos alimentarios (síndrome por atracón, vigorexia, megarexia). Las hormonas estudiadas son: PTH intacta, vitamina D, osteocalcina, testosterona, SHBG (proteína transportadora de la testosterona), DHEA-S (dehidroepiandrosterona-sulfato), cortisol en orina, GH (hormona de crecimiento), IGF-1 (factor de crecimiento insulínico tipo 1), IGF1- BP III (proteína transportadora de la IGF-1) y ghrelina (hormona de regulación del metabolismo energético).

**Objetivo:**

El objetivo es determinar si alguna de estas hormonas se alteran con este tipo de trastornos, en el laboratorio de Medicina Nuclear del Hospital Universitario de Salamanca.

**Material y Método:**

El estudio se realiza con 152 muestras extraídas de pacientes provenientes de la Unidad de Trastornos de la Conducta Alimentaria (UTCA), de las cuales, 18 son de hombres y 134 de mujeres, comprendidos entre los 12 y los 56 años.

El método utilizado para los resultados, son técnicas de radioinmunoanálisis.

**Resultados:**

Una vez hecho el estudio, este ha sido el resultado:

	ALTOS	NORMALES	BAJOS
PTH INTACTA	12 ( 7.8%)	138 ( 90.7% )	2 ( 1.3% )
VITAMINA D	64 ( 42.1% )	86 ( 56.5% )	2 ( 1.3% )
OSTEOCALCINA	56 ( 36.8% )	94 ( 61.8% )	2 ( 1.3% )
TESTOSTERONA	15 ( 9.8% )	137 ( 90.2% )	0 ( 0% )
SHBG	18 ( 11.8% )	134 ( 88.1% )	0 ( 0% )
DHEA-S	10 ( 6.5% )	141 ( 92.7% )	1 ( 0.6% )
GH	17 ( 11.1 )	42 ( 27.6% )	93 ( 61.1% )
IGF-1	5 ( 3.2% )	23 ( 15.1% )	124 ( 81.5% )
IGF-1--BPIII	0 ( 0% )	149 ( 98% )	3 ( 2% )
CORTISOL ORINA	1 ( 0.6% )	115 ( 75.6% )	36 ( 23.6% )
GHRELINA	32 ( 21% )	118 ( 77.6% )	2 ( 1.3% )

**Conclusiones:**

Una vez concluido el estudio de las muestras recibidas en nuestro laboratorio, observamos que en las hormonas GH e IGF-1, en un porcentaje mayor, sus valores están por debajo del rango de normalidad, y el resto de las hormonas estudiadas, sus valores están dentro de los rangos de normalidad en un porcentaje más alto.

**UTILIDAD DE ESTUDIO GENÉTICO EN HIPERCALCEMIA HIPOCALCIÚRICA FAMILIAR: A PROPOSITO DE DOS CASOS.**

*Autor/a/s:* RIOS RAMOS MARIA JOSEFA, MONGE CAMACHO MARIA DEL PATROCINIO, VILORIA PEÑAS MARIA DEL MAR

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO VALME Localidad:

*Dirección del primer firmante:*

*Localidad:* Código Postal: *Provincia:* SEVILLA

*Correo electrónico del primer firmante:* mj.rios.rios@gmail.com

**Introducción:**

La hipercalcemia hipocalciúrica familiar (HHF) es un trastorno con herencia autosómica dominante con alta penetrancia motivada por una mutación inactivante en el gen del receptor sensible a calcio (CASR). Los pacientes heterocigotos típicamente son asintomáticos y se caracterizan por hipercalcemia persistente, inapropiadamente baja excreción de calcio en la orina y niveles de PTH normales y suelen descubrirse de forma casual.

**Objetivo:**

Valorar la utilidad de los estudios genéticos en los casos de Hipercalcemia Hipocalciúrica Familiar

**Material y Método:**

Estudio descriptivo de 2 familias con hipercalcemia, en las que recientemente mediante estudio genético hemos confirmado presentan Hipercalcemia Hipocalciúrica Familiar (HHF), a pesar de los datos clínicos y bioquímicos discordantes que presentaban.

FAMILIA 1: 4 miembros afectados. Caso índice: Mujer de 35 años. calcio elevado 11,1 mg/dl, Fósforo ligeramente disminuido: 2,4 con magnesio y creatinina normales. Calciúria de 24 horas: 272 mg RTP: 70. CCCR: 0,0137(1,37%). Niveles de PTH intacta elevados 110 pg/ml y déficit de 25- HidroxivitaminaD 24,8 nmol/L. Eco y gammagrafía normales. Padre y dos hijos con hipercalcemia asintomática.

FAMILIA 2: 7 miembros afectados. Caso índice: Varón de 39 años. calcio de 11,7 mg/dl. Fósforo de 2,74 mg/dl, Magnesio: 2,19 mg/dl. Calciúria: 82mg/24 horas. CCCR: 0,003 (<1%) Fosfatúria: 1254 mg /24 horas. RTP: 80.La PTH intacta estaba elevada 72 pg/ml y los niveles de 25 hidroxivitamina D: 40 nmol/L (N. 50-250).Eco: Normal. Gammagrafía: Imágenes compatibles con Adenoma paratiroides.

Calcio, fósforo, magnesio, fosfatasa alcalina y creatinina se determinaron en ayunas por métodos de laboratorio automatizados. (Método fotometría. En el Cobas c711. Hitache. Roche Diagnostics. Se determinó la PTH intacta por un ensayo inmunométrico quimioluminiscente

(Inmulite 2000. Siemens y la 25 Hidroxivitamina D por quimioluminiscencia en el Laboratorio Externo Balague Center. Extracción de ADN automática (Qiagen). Amplificación por PCR mediante primers flanqueantes. Secuenciación .

#### Resultados:

De los tres índices de excreción renal de calcio (CE, CR y CCCR) el CCCR (cociente aclaramiento de calcio/aclaramiento de creatinina) es considerado el de elección por su mejor poder discriminativo. La mayoría de las guías ( fijan un punto de corte para el CCCR de <0,01 (<1%) lo que indica que mas del 99% del calcio filtrado es reabsorbido a pesar de la presencia de hipercalcemia- para el FHH- y > de 0,02 para el HPT1°, que son ampliamente citados y aceptados. Valores de CCCR en el caso índice de la Familia 1 a lo largo de 8 años de seguimiento es: 0.014, 0.019, 0.036, 0.019, 0.015, 0.022, 0.018, 0.017. Valores de PTH (pg/ml): 110, 81, 43, 78, 61, 49,62, 93. La paciente ha tenido franca y persistente hipercalcemia a lo largo de los años as, presentando valores mas propios de HPT1° que de HHF si consideramos, como proponen las guías.

En el caso índice de la segunda familia, considerando la edad del paciente, niveles de calcio, su osteopenia y la captación de la gammagrafía se decidió también la exploración quirúrgica del cuello, explicándonos la hipocalciuria por sus niveles bajos de vitamina D. En la cirugía se extirpa un adenoma de paratiroides inferior izquierdo, y se realiza monitorización intraoperatoria de la PTH que disminuyó de 72 pg/ml a 47 pg/ml post cirugía. Aunque al día siguiente a la cirugía el calcio total se normalizó, 9.8mg/dl, en los años posteriores de seguimiento en nuestras consultas el paciente sigue con hipercalcemia hipocalciurica – CCCR siempre inferior a 0,01 (<1%)– a pesar de haberse normalizado los niveles de vitamina D tras tratamiento. Los otros tres miembros de la familia en los años de seguimiento permanecen asintomáticos y con CCCR igualmente <0,01 (< 1%).

En ambos casos por los datos discordantes de su historia se realizó un estudio genético. Resultados mutación c. 164>T (Pro55Leu) en el exón 2 en heterocigosis que está descrito como responsable de HHF.

#### Conclusiones:

La disponibilidad de estudios genéticos esta permitiendo expandir el espectro clínico de la HHF y descubrir presentaciones atípicas, como formas hipercalcemicas. Para las guías clínicas actuales (14) el diagnóstico definitivo de HHF requiere estudio genético. Analizamos los protocolos actuales para despistaje genético en pacientes con sospecha de FHH para su uso racional. Un test genético para la mutación del CASR en los casos atípicos, como los que nosotros presentamos, puede evitar cirugías innecesarias y según nuestra opinión costes excesivos en el seguimiento.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 093

#### TIEMPO DE RESPUESTA EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO SAN AGUSTIN DE LINARES(JAEN)

Autor/a/s: M<sup>o</sup>CAPILLA ORTEGA PEREA ANA AGUDO MORENO ANTONIA MONTENEGRO CORREDERA JOSE MANUEL HURTADO RAMOS M<sup>o</sup>FRANCISCA MUÑOZ MARIN JUANA MORAL MORAL PEDRO MOLINA SANCHEZ

Centro de trabajo: HOSPITAL SAN AGUSTIN DE LINARES

Provincia: JAEN

Correo electrónico del primer firmante: coperea@hotmail.com

#### Objetivo:

Cuantificación del Tiempo de Respuesta en el Laboratorio de Urgencias del Hospital Universitario San Agustín de Linares, para el periodo comprendido entre Enero y Diciembre de 2011.

#### Introducción:

Uno de los indicadores de calidad más importante en el laboratorio de urgencias y uno de sus principales Objetivos es minimizar el Tiempo de Respuesta (TR); tiempo que transcurre desde que se reciben las muestra en el laboratorio hasta la emisión de las mediciones analíticas correspondientes.

Este TR incluye la recepción e identificación del espécimen, obtención de la muestra a analizar, fase metrológica, validación del informe y emisión del mismo.

#### Métodos y Materiales:

Estudiadas las solicitudes de analíticas recibidas en el servicio de urgencias se realiza el cálculo estadístico de TR durante el transcurso de Julio a Diciembre del 2011 utilizando el soporte informático Open Lab, realizando un estudio comparativo del TR < 60 min con el total de peticiones decepcionadas.

#### Resultados:

En Enero se recibieron 3404 analíticas, de las cuales 3282 estuvieron en un TR < 60 min., en Febrero fueron un total de 3014 y 2894 en un TR<60 min., en Marzo el volumen fue de 3300 y de este < 60min 3133, en Abril se procesaron 3247 analíticas con un TR<60min.

para 3153, en Mayo tuvimos 3172 muestras y 3070 con un TR<60 min., en el mes de junio el total sumó 2754 y con un TR <60min 2677, de 3054 peticiones procesadas en Julio 2958 fueron en un TR <60 min., en Agosto se recibieron 2926 y se dio un TR <60 min. A 2842, en Octubre se trabajaron 3084 y por debajo de 60 min. 3001, en Noviembre el total fue de 2991 y de ellas con TR <60 min. 2918 y para finalizar en Diciembre se procesaron 2768 analíticas y se dio un TR<60min. a 2722.

#### Conclusiones:

– Los resultados arrojan un TR de 96% en enero, febrero, mayo y julio, 97% en abril, junio, agosto, septiembre, octubre, y noviembre y 98% en diciembre y un 94% en marzo.

– Observando los resultados obtenidos vemos que el porcentaje de TR <60min. oscila entre el 96% y 98%, con lo que cumpliríamos el objetivo propuesto.

– Destacamos la importancia de la medición sistemática, análisis y mejora del tiempo respuesta como una buena medida global de la calidad de un laboratorio.

– La implantación en nuestro Hospital de impresoras remotas así como de tubo neumático ayuda a acortar el TR.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 095

#### VALOR PREDICTIVO DEL COCIENTE PROTEÍNAS/CREATININA (PR/CR) EN LA ESTIMACIÓN DEL COCIENTE ALBÚMINA/ CREATININA (ACR) EN ORINA AISLADA.

Autor/a/s: INÉS GONZÁLEZ BARRETO, FABIOLA COELLO RODRÍGUEZ, MILAGROS GONZÁLEZ DÉNIZ, M<sup>o</sup>JOSE PÁDILLA GONZÁLEZ, MONTSERRAT MARTIN JEREZ.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE CANARIAS

Provincia: (TENERIFE)

Correo electrónico del primer firmante: senigb@hotmail.com

#### RESUMEN:

El último documento de consenso publicado por la Comisión de Función Renal de la Sociedad Española de Química Clínica (SEQC) establece que los valores del cociente albúmina/creatinina (ACR) entre 30 y 300 miligramos de albúmina por gramo de creatinina (mg/g), deben interpretarse como albuminuria. Un cociente ACR > 300 mg/g se considera proteinuria y el paciente puede monitorizarse con el cociente proteínas/creatinina (PR/CR).

La mayoría de las muestras de orina "aisladas" recibidas en nuestro laboratorio, presentan el cociente ACR fuera del rango de albuminuria, y por tanto la cuantificación de albúmina, en estos casos, es poco informativa. Según esto, podría establecerse un criterio, utilizando como cribado el cálculo del cociente PR/CR, para decidir realizar la cuantificación de albúmina.

#### Objetivo:

Establecer los puntos de corte del cociente PR/CR capaces de detectar el mayor número de pacientes con criterio de albuminuria de acuerdo al cociente ACR en orina aislada.

#### Material y Métodos:

Se analizaron 1552 muestras de orina aislada a las que se les había determinado proteínas, creatinina y albúmina, calculándose los cocientes ACR y PR/CR. Las determinaciones se realizaron en un Modulo P de Hitachi con reactivos de Roche Diagnostic.

Los puntos de corte del cociente PR/CR se estudiaron mediante curvas ROC.

#### Resultados:

Se usó la razón de máxima verosimilitud (sensibilidad/1-especificidad) para detectar los puntos de corte que optimizaran la predicción de la albuminuria a partir del cociente PR/CR.

PUNTO DE CORTE PR/ CR.MG/G.	AUC (IC 95%)	ERROR TÍPICO	SENSIBILIDAD %(IC95%)	ESPECIFICIDAD %(IC95%)	RAZÓN SIMILITUD
137.82	0,986(0,979-0,991)	0,002	94,90(93,3-96,2)	93,17(90,8-95,1)	13,895
445,07	0,978(0,970-0,985)	0,003	92,37(90,06-93,9)	97,55(95,8-98,7)	37,702

En la tabla se expone el intervalo de PR/CR (137,82-445,07 mg/g) que detecta el mayor número de pacientes con cociente ACR informativo (30-300 mg/g) en nuestra muestra.

En nuestro estudio, 1142 muestras del total se encuentran fuera de este intervalo, por lo que nos ahorraríamos realizar la cuantificación de albúmina.

#### Conclusiones:

El uso del intervalo de cociente PR/CR establecido (137,82-445,07 mg/g) como método de cribado, permitiría optimizar el uso del cociente ACR.

Con los datos de nuestro estudio, nos hubiéramos ahorrado el 73,58 % de las cuantificaciones de albúmina.

**INTERFERENCIA CAUSADA POR EL PROPOFOL EN LA DETERMINACION DE PORFIRINAS EN ORINA POR HPLC**

Autor/a/s: Ines Montes Jimenez, Dolores Romeral Moraleda, Isabel Bonilla Ortega, M<sup>a</sup> Carmen Díaz Gonzalez, Carlos Castillo Pérez.

Centro de trabajo: Hospital Clínico San Carlos

Provincia: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: inesmontesj@gmail.com

**Introducción:**

Las Porfirias son un grupo de enfermedades metabólicas causadas por el déficit de algún enzima implicado en la síntesis del grupo hemo, lo que origina que las porfirinas y/o sus precursores se produzcan en exceso, se acumulen en los tejidos y se excreten en heces y orina, originado manifestaciones clínicas cutáneas y/o neurológicas

Su diagnóstico se realiza mediante la cuantificación de porfirinas totales y fraccionadas en orina, heces y sangre.

El HPLC (Cromatografía Líquida de alta Resolución) es la técnica de elección para la determinación de Porfirinas en orina.

**Objetivo:**

Presentar las interferencias encontradas en la excreción de Porfirinas en pacientes que han sido sedados con Propofol usando un método de HPLC,

**Material y Métodos:**

Se estudió el patrón de excreción de porfirinas en orina de 24 horas de 2 pacientes, sin sospecha de Porfiria, que habían sido sedados con Propofol durante más de 24 horas y tras la retirada del fármaco.

Métodos: HPLC en fase reversa con fase estacionaria C18, con un método en gradiente a 25° C de Chromsystems® y detección de fluorescencia a 405 / 620 nm en un cromatógrafo Shimadzu Prominence.

**Resultados:**

Se encontró una alteración del patrón de excreción, con una marcada elevación del hexaporfirinógeno y uroporfirinógeno en ambos pacientes, así como la presencia de dos picos interferentes de igual tiempo de retención e intensidad en todos ellos, uno situado entre 7,5-8 min, cercano al pico generado por el estándar interno de la prueba y el segundo se localiza entre los picos generados por los intermediarios hexaporfirina y pentaporfirina

	Uroporfirinógeno/24 h (0- 25 mg/24h)	Hexaporfirinógeno /24 h (0-2 mg/24h)
<b>Paciente 1 con Propofol</b>	79,2	75,6
<b>Paciente 1 sin propofol</b>	19,5 2,6	
<b>Paciente 2 con Propofol</b>	17 mg/L	67 mg/L
<b>Paciente 2 sin propofol</b>	7,2 2,4	

Cuando a los pacientes se les retira el Propofol, se produce una progresiva normalización de los patrones de excreción y de las concentraciones de Porfirinas en orina, siendo completamente normales al sexto día.

**Conclusión:**

Los datos obtenidos parecen indicar la relación directa entre el uso del Propofol, la alteración en el patrón de excreción de porfirinas, y la presencia de una interferencia metodológica.

Esto puede ocasionar falsos positivos en la cuantificación de Porfirinas totales y en la interpretación del patrón de excreción, por lo que su conocimiento es de gran importancia para evitar diagnósticos erróneos

**COMPARACION ENTRE 3 METODOLOGÍAS PARA LA CUANTIFICACION DE 25-OH VITAMINA D TOTAL**

Autor/a/s: Dolores Romeral Moraleda, Inés Montes Jiménez, M<sup>a</sup> Carmen Díaz Gonzalez, Isabel Bonilla Ortega, Isabel Ortega Mandueño

Centro de trabajo: Hospital Clínico San Carlos

Provincia: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: inesmontesj@gmail.com

**Introducción:**

La vitamina D juega un papel muy importante en el metabolismo fosfo-cálcico y en el metabolismo óseo. Su deficiencia se ha asociado a enfermedades óseas como raquitismo, osteomalacia y osteoporosis. Y actualmente también se ha relacionado con enfermedades

crónicas como la diabetes, enfermedades autoinmunes, riesgo cardiovascular y cáncer.

El mejor indicador del estado nutricional de vitamina D es la determinación en suero de 25(OH)-vitamina D Total, pero la gran variabilidad existente entre métodos dificulta la comparación de resultados entre diferentes laboratorios.

**Objetivo:**

Comparar tres métodos de inmunoensayo por quimioluminiscencia, para la cuantificación de 25-(OH)-vitamina D total en suero.

**Material y Métodos:**

Se recogieron 150 muestras de suero en tubos Vacutainer (SST) y se conservaron a 4° C hasta su procesamiento.

Se determinó 25-(OH)-vitamina D total en todas las muestras utilizando tres tipos de inmunoensayo:

– Inmunoensayo quimioluminiscente de micropartículas paramagnéticas (Architect System Abbott Diagnostics®)

– Inmunoensayo electroquimioluminiscente para la determinación cuantitativa de 25-OH Vitamina (Elecys® Vitamin D Total assay)

– Inmunoensayo competitivo directo por quimioluminiscencia (Liaison DiaSorin®)

El grado de asociación entre los métodos se estudió mediante el coeficiente de correlación de Spearman, el coeficiente de correlación intraclase (CCI) y mediante gráficas de Bland-Altman.

Rho Spearman	ROCHE	ABBOTT	LIASON
<b>ROCHE</b>	1	0.869	0.859
<b>ABBOTT</b>	0.869	1	0.882
<b>LIASON</b>	0.859	0.882	1

	ABBOTT/ROCHE	ROCHE/LIASON	LIASON/ABBOTT
<b>C.C.I</b>	0.916 (0.89-0.94)	0.904 (0.87-0.93)	0.984 (0.98-0.99)

**Conclusiones:**

Existe una buena correlación entre los métodos estudiados.

La falta de un material de referencia de calibración para inmunoensayos es una limitación que ocasiona que la concordancia entre resultados por diferentes metodologías sea solo aceptable, requiriendo establecer puntos de corte específicos según el método utilizado.

**USO RACIONAL DE PRUEBAS DE LABORATORIO : MICROALBUMINURIA.**

Autor/a/s: M<sup>a</sup> ANUNCIACION FRADE GARCIA, PEDRO INDALECIO MOLINA UTRERA, CONCEPCION MONTES SANCHEZ, MARIA AGULLO SOLA, PATRICIA CASASEMPERE SASSO.

Centro de trabajo: HOSPITAL MARINA BAIXZ

Provincia: ALICANTE

Correo electrónico del primer firmante: nunchi.frade64@gmail.com

**Introducción:**

El cociente albúmina/creatinina en una muestra aislada de orina, preferiblemente de la primera hora de la mañana, se emplea para valorar la excreción urinaria de proteínas. Este cociente representa una buena estimación de la proteinuria y evita utilizar la recogida de orina de 24h.

Se recomienda su determinación en la detección y el seguimiento de pacientes en riesgo de presentar ERC (enfermedad renal crónica):

- Mayores de 60 años.
- Hipertensos
- Diabéticos
- Pacientes con enfermedad cardiovascular
- Familiares de pacientes con ER.

**Objetivo:**

Crear un algoritmo para el cribado de las peticiones de microalbuminuria procedentes de pacientes de AP ( Atención Primaria).

**Material y Método:**

El algoritmo se basó en el " Documento de consenso sobre la enfermedad renal crónica" de la Sociedad Española de Nefrología (SEN) y la Sociedad Española de Medicina de Familia y Comunitaria (semFYC). Y se aplicó sistemáticamente en las peticiones de microalbuminuria de AP durante un periodo de 4 meses.

– Se realizó la determinación de microalbumina en:

- Pacientes con criterios de riesgo de ERC.
- Pacientes sin diagnóstico y con analíticas previas patológicas (glucemia, colesterol, triglicéridos, creatinina o microalbúmina alterada).
- Pacientes sin diagnóstico ni analíticas previas.

– No procede en:

- Pacientes con criterios de ERC y resultado de microalbuminuria normal en menos de 4-6 meses.
- Pacientes sin criterios de riesgo de ERC y analíticas previas normales.

#### Resultados:

De Octubre de 2011 a Enero de 2012 se han revisado un total de 5517 peticiones de microalbúmina (95/día). De ellas, 3615 (66%) procedían de peticionarios de AP. Siguiendo el algoritmo descrito, se rechazaron un total de 830 (23%) determinaciones de microalbúmina, lo cual ha supuesto un ahorro de 1070 €, estimándose un ahorro anual de 3200 €.

#### Conclusión:

La aplicación del algoritmo diseñado contribuye a mejorar el uso racional de pruebas de Laboratorio y lleva asociado un importante ahorro económico.

Cabría destacar la importancia de concienciar a los clínicos para una gestión más eficiente de los recursos disponibles.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 113**

### COMPARACIÓN ENTRE CÉLULAS DE MEDICIÓN PARA LA TIROTROPINA EN LOS ELECSYS 170 DE ROCHE.

*Autor/a/s:* Nicolas Corral, Montserrat, Gonzalez Muñoz, Judit, Tura Farré, María.

*Centro de trabajo:* Catlab

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* montsenico29@gmail.com

#### Introducción:

El departamento de Bioquímica de Catlab, con una media de 2000 peticiones/día, cuenta con una área de suero formada por varios analizadores de Roche distribuido en tres líneas analíticas conectadas a un módulo pre-analítico MPA. La primera línea está formada por un módulo ISE y un Cobas 711, la segunda por cuatro módulos Elecsys 170 (módulo EEEE) y la tercera por un módulo P y dos módulos Elecsys 170. En el módulo EEEE se analizan hormonas y marcadores tumorales; cada módulo consta de dos canales de medición llamadas células. Según el nº de determinaciones diarias de una técnica, ésta está asignada a uno o dos módulos y a una o ambas células. La TSH está en dos módulos y en ambas células de éstos, es decir, se puede determinar en cuatro células de medición distintas (E3-1, E3-2, E4-1, E4-2)

#### Objetivos:

Comprobar que no existan diferencias significativas entre los resultados obtenidos para la TSH en cuatro células de medición distintas.

#### Material y Métodos

Se han utilizado los resultados obtenidos durante tres meses de pasar diariamente los controles Inmunoassay plus nivel 1,2 y 3 de Bio-Rad por cada una de las células de medición y para cada pack de reactivo y se han comparado utilizando el método estadístico de Bland & Altman. Con ello, se han obtenido seis gráficas para cada nivel de control (18 en total) correspondientes a todas las combinaciones posibles de pares de células de medición donde se representan las diferencias entre las mediciones de los resultados obtenidos frente a su media.

En el caso de que no haya error sistemático los puntos se distribuyen de forma aleatoria a uno y otro lado de la recta correspondiente a la diferencia 0 entre medidas.

Para saber si las diferencias obtenidas son significativas, se han comparado con el error sistemático máximo admitido (ESa) de la TSH que viene dado por la siguiente fórmula:

$ESa < 0.125 \cdot \sqrt{CVbi^2 + CVbg^2}$  en la que solo se ha tenido en cuenta al componente Cvbi es decir,  $ESa < 0.125 \cdot CVbi$ .

El coeficiente de variación biológica individual (CVbi) es de 19.3 y se obtiene de la base de datos de la variación biológica de la Sociedad Española de bioquímica clínica y patología molecular (SEQC)

#### Resultados:

Para el nivel 1 de Inmunoassay plus tienen error sistemático las gráficas entre E4-1 y E4-2, E3-2 y E4-2, E3-2 y E4-1, E3-1 y E4-1 y entre E3-1 y E4-2; y no tiene error entre la célula E3-1 y E3-2.

Para el nivel 2 de Inmunoassay plus tienen error sistemático las gráficas entre E4-1 y E4-2, E3-2 y E4-2, E3-2 y E4-1, E3-1 y E3-2 y entre E3-1 y E4-1; y no tiene error entre la célula E3-1 y E4-2.

Para el nivel 3 de Inmunoassay plus tienen error sistemático las gráficas entre E3-1 y E3-2, E4-1 y E4-2, E3-1 y E4-1 y entre E3-1 y E4-2; y no tiene error entre las células E3-2 y E4-2 y entre E3-2 y E4-1.

Para la TSH se calcula un ESa de 2.413%, todos los % de las diferencias de resultados de las gráficas son inferiores a este.

#### Conclusiones:

Se observan diferencias estadísticamente significativas entre algunas de las células de medición, pero estas no son relevantes clínicamente ya que el error sistemático de estas es inferior al error sistemático individual máximo admitido para la TSH.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 117**

### COLESTEROL Y TRIGLICÉRIDOS EN NIÑOS PROCEDENTES DE LA CONSULTA DE PEDIATRÍA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA.

*Autor/a/s:* (Redondo Sánchez Yolanda, Martín Andrés M<sup>a</sup> Felicidad, Hernández Benito Melania, Casado Hernández M<sup>a</sup> Carmen, Hernández Benito Demetría, Martín García Julia, Hernández Cerceño M<sup>a</sup> Luisa.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA.)

*Provincia:* SALAMANCA

*Correo electrónico del primer firmante:* yoliredondo@gmail.com

#### Introducción:

El colesterol es un esteroide con un grupo hidroxilo secundario en la posición C3. Se sintetiza en tejidos de varios tipos pero especialmente en el hígado y en pared intestinal.

Aproximadamente tres cuartas partes del colesterol se forman por síntesis, mientras que la cuarta proviene de la alimentación.

Los triglicéridos son ésteres de glicerol, un alcohol trivalente con tres ácidos grasos de cadena larga. El organismo lo sintetiza en el hígado y los ingiere con la alimentación.

El colesterol es indispensable para el desarrollo de los niños, ya que interviene en la formación de células y de algunas hormonas. Sin embargo, si llega a niveles elevados puede afectar directamente al sistema circulatorio (enfermedades cardiovasculares). La Hipercolesterolemia es el principal factor de riesgo de arterioesclerosis. Esta patología a menudo hereditaria se inicia en los primeros años de vida, aunque no se manifiesta hasta los 30 o 40 años.

#### Objetivos:

Valorar el colesterol y los triglicéridos de niños que acuden a la consulta de pediatría del Hospital Universitario de Salamanca por edades y por punto de origen.

#### Material y Métodos:

Se determinó el colesterol y triglicéridos en suero o plasma a 275 niños que acuden a la consulta de pediatría y urgencias por diversos motivos. Se distribuye por edades y origen:

Los niños se clasificaron por edades: preescolares de 1-3 años; infantiles de 3-7 años; preadolescentes de 7-10 años; y adolescentes de 10-14 años y los distribuimos por zonas: Salamanca capital, Salamanca metropolitana, provincia de Salamanca, Ávila y Zamora.

Ambas determinaciones se analizan en un Cobas 8000 (ROCHE) por un método enzimático-colorimétrico. Aplicamos el programa estadístico SPSS 18.0

#### Resultados:

Obtuvimos una Media de Colesterol y una Mediana de Triglicéridos por edades de la siguiente manera: Preescolares de Colesterol: 150mg/dl y Triglicéridos 84mg/dl, Infantiles C: 163mg/dl y T: 57mg/dl, Preadolescentes C: 165mg/dl y T: 64mg/dl y Adolescentes C: 154mg/dl y T: 75mg/dl y por zonas de origen: Salamanca capital: C: 161mg/dl y T: 71mg/dl, Zona Metropolitana C: 160mg/dl y T: 83mg/dl, Salamanca *Provincia:* C: 153mg/dl y T: 67mg/dl, Ávila C: 165mg/dl y T: 95mg/dl y Zamora C: 164 mg/dl y T: 81mg/dl.

#### Conclusiones:

La Media de los niños está dentro de los valores que aconseja el Programa Nacional para la Educación sobre el colesterol recomendando ser inferior a 170mg/dl.

Los triglicéridos también están dentro de la normalidad aceptable. Se observa que las medias de colesterol son más bajas en preescolares y adolescentes.

La alimentación de preescolares depende directamente de la madre y en los adolescentes puede que tomen conciencia de la importancia de la alimentación saludable.

No se ve variación en la distribución por origen ya que en las zonas rurales la alimentación es similar a las zonas metropolitanas.

**HEPATITIS FULMINANTE POR PARACETAMOL. A PROPOSITO DE UN CASO.**

Autor/a/s: Myriam González Jiménez; Raquel Rubio Mediavilla; Raquel Molinero de la Fuente; Virginia Martín Díaz; Ruben Gómez Rioja; María Jose Alcaide Martín.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO LA PAZ

Provincia: MADRID

Correo electrónico del primer firmante: myrem1982@hotmail.com

**Introducción:**

Paciente de 43 años que acude al Servicio de Urgencias de nuestro hospital, con dolor en epigastrio irradiado a ambos hipocondrios, asociado a náuseas y vómitos. Afebril, deposiciones normales. La paciente refiere ser bebedora habitual y fumadora de 1 paquete diario. No exacerbación del consumo habitual.

**Objetivo:**

Presentar un árbol diagnóstico ante la presencia de transaminasas muy elevadas sugerentes de un cuadro de hepatitis aguda fulminante.

**Material y Métodos**

Las peticiones analíticas solicitadas por el Servicio de Urgencias y las Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), fueron realizadas en el Laboratorio de Urgencias de nuestro hospital en los analizadores BCS-XP (coagulación), Dimensión Vista 1500 (bioquímica) y en un Radiometer ABL 90 Flex (gasometría) de Siemens Healthcare Diagnostic.

**Resultados:**

En la tabla se presenta la evolución analítica de la paciente desde su ingreso en el hospital.

		15/09/11 Urgencias	16/09/11 Urgencias	17/09/11 Ingreso UCI	17/09/11 UCI tarde	20/09/11 Alta UCI	24/09/11 Planta
Coagulación	T.Protrombina (sg)	13.1	50.7	61.7	-	14	-
	% Protrombina	72	14	11	-	69	84
	INR	1.2	4.5	5.5	-	1.3	1.11
Bioquímica	AST( UI/L)	2893	14132	11258	9886	1700	119
	ALT( UI/L)	735	4857	4057	3449	1900	391
	GGT( UI/L)	443	580	427	372	447	
	LDH( UI/L)	1801	12941	11897	-	-	
	Creatinina (mg/dl)	0.68	0.70	-	1	0.6	
	Amilasa (UI/L)	557	731	545	-	-	
Gasometría	Bilirrubina total (mg/dl)	3.1	5.7	6.1	5.60	5.4	4.8
	Ph sangre venosa	7.41	7.28	7.37	7.282	7.43	-
	PCO2 (mmHg)	35	37.5	26.7	29.2	30.3	-
	Bicarbonato (mmol/L)	22	17.5	17.1	15.2	19.9	-
	Exceso bases (mmol/L)	-2.4	-8.6	-9.8	-11.8	-3.0	-
Anión GAP (mmol/L)	9.9	12.8	13.5	12.8	-		

En la primera analítica recibida en el laboratorio, se observa una elevación marcada de las transaminasas (ratio AST/ALT >2), GGT y LDH acompañada de hiperbilirrubinemia e hiperamilasemia. Estos resultados junto con los antecedentes de enolismo, sugiere una probable hepatitis aguda de origen enólico con pancreatitis aguda. El tratamiento que recibe la paciente es sueroterapia, paracetamol de 1 g. y primperan.

A las 15h de su ingreso (16/09/11) se le realiza una nueva analítica de control, observando un aumento significativo (5 veces) de los valores de AST, ALT y LDH, con aumento de bilirrubina, pero sin incremento importante de la amilasemia. En la gasometría se observa la aparición de una acidosis metabólica con anión GAP positivo. La actividad de protrombina disminuye al 14%. Con estos datos se decide reevaluar a la paciente sobre otras posibles causas de hepatitis aguda. Se solicita serología de virus hepatotropos, con resultados negativos. En una nueva anamnesis, la paciente reconoce haber ingerido aproximadamente 7g. de paracetamol en las 24h previas al ingreso.

Se diagnóstica una probable hepatitis farmacológica por paracetamol y se traslada a la paciente a la UVI con un bajo nivel de consciencia.

El diagnóstico al ingreso en UCI es fallo hepático agudo, coma hepático, derrame pleural bilateral, probable estenosis hepática. Se inicia tratamiento con N-acetilcisteína, vitamina K, antibiótico y lactulosa para corregir el pH. Se trasfunde plasma fresco congelado y pool de plaquetas, evolucionando favorablemente en una semana.

**Discusión:**

La intoxicación por paracetamol es una de las causas más frecuentes de fallo hepático agudo. En una primera etapa la sintomatología es inespecífica. En una segunda etapa se iniciaría el daño hepático con una elevación de las transaminasas a las 24h del inicio. La tercera etapa concluye con fallo hepático, que cursa con una alteración multiorgánica (insuficiencia renal, coagulopatías, acidosis metabólica) que desemboca en coma hepático. El riesgo aumenta en pacientes desnutridos, alcohólicos y en los que ingieren fármacos inductores del citocromo P-450.

La medición de los niveles de paracetamol en sangre en el laboratorio de urgencias puede orientar el diagnóstico y es un buen indicador, junto con el tiempo de evolución, de la aparición de complicaciones

**RELACION ESTADISTICA ENTRE LOS NIVELES DE PROCALCITONINA(PTC)Y PROTEINA C REACTIVA (PCR).**

Autor/a/s: Pilar Guillen Esteban, M<sup>a</sup> Isabel Barcones Jimenez, Isabel Sanchez Donaia.

Centro de trabajo: Hospital Universitario de Mostoles

Provincia: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: brevas2hotmail.com

**Introducción:**

Clásicamente se han utilizado los leucocitos y la proteína C reactiva (PCR) para el diagnóstico de infección, pero ambos presentan ciertas limitaciones. La procalcitonina (PCT), la prohormona de la calcitonina, se ha mostrado como un nuevo marcador que ha demostrado buena sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de infecciones bacterianas graves.

**Objetivo:**

Evaluar la relación estadística entre los niveles de procalcitonina (PCT) y proteína C reactiva (PCR).

**Material y Métodos:**

Población estudiada 66 pacientes adultos ingresados con fiebre superior a 38°C.

Las muestras se extrajeron en tubos con heparinato de litio y se enviaron al laboratorio donde fueron centrifugadas a 3500 r.p.m. durante 5 minutos. El plasma se alícuotó y congeló a -20°C hasta el momento del análisis.

La procalcitonina se cuantificó en 2 series por un ensayo inmunoenzimático fluorescente VIDAS® B-R-A-H-M-S PCT (bioMérieux). La sensibilidad funcional del ensayo es de 0,09 ng/L y el coeficiente de variación interserie para muestras con concentraciones inferiores a 0,46 ng/mL inferior a 5,5% y para concentraciones por debajo de 0,25 ng/mL inferior a 7,5%.

La PCR se cuantificó en un analizador Dimension RxL (SIEMENS) por inmunoensayo turbidimétrico mejorado de partículas (PETIA). La sensibilidad funcional es inferior a 1,1 mg/L y el coeficiente de variación interserie inferior al 5%.

**Métodos estadísticos:**

Para valorar la relación entre dos parámetros bioquímicos se utilizó el coeficiente de Pearson. Se hizo una primera valoración en todos los pacientes y una segunda incluyendo solamente aquellos pacientes en los que ambas analíticas presentaban resultados por encima del rango de referencia (5 mg/L para la PCR y 0.5 ng/mL para PTC)

**Resultados:**

N = 66	PTC>0,5/ PCR>5,0	PTC<0,5/ PCR<5,0	PTC<0,5/ PCR>5,0	PTC>0,5/ PCR<5,0
PCT (ng/ml)	22	3	41	0
PCR (mg/dl)	22	3	41	0

CORRELACION	PEARSON	
PTC ng/mL	PCR mg/L	0,37321227
PTC > 0,5	PCR >5	0,24560613

**Conclusiones:**

Los resultados indican una correlación positiva débil entre los niveles de PCR y PTC. Esta correlación es más débil cuando solamente se incluyen los pacientes con resultados patológicos en ambas determinaciones. Esta discordancia podría deberse a que los

mecanismos que estimulan la síntesis de las dos proteínas son totalmente diferentes. La PCR forma parte del mecanismo general de respuesta a la inflamación y la PCT responde preferentemente a la infección bacteriana. Sorprende el menor grado de correlación observado en los pacientes con ambas analíticas patológicas, quizá atribuible al bajo número de pacientes en esta circunstancia. Se podría concluir que la relación entre ambos parámetros es débil y que la introducción de la PCT no permite la eliminación de la PCR. Ambos parámetros proporcionan una información diagnóstica diferente y complementaria.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 130

### ¿ ES UTIL LA DETERMINACIÓN DE PCR, PROCALCITONINA, 1,3 BETA-D-GLUCANO Y ANTICUERPOS ANTIMICELIOS, EN EL DIAGNOSTICO PRECOZ DE LA CANDIDIASIS INVASIVA EN PACIENTES CON PATOLOGIA ABDOMINAL COMPLICADA ?

Autor/a/s: MONGE CAMACHO MARIA DEL PATROCINIO; RIOS RAMOS MARIA JOSE; VILORIA PEÑAS MARIA DEL MAR.

Centro de trabajo: HOSPITAL VIRGEN DE VALME

Provincia: SEVILLA

Correo electrónico del primer firmante: patrichi16@gmail.com

#### Introducción:

En los pacientes graves el diagnóstico de candidiasis invasiva es un reto y se basa casi siempre en aspectos clínicos. Desde el punto de vista del laboratorio algunos trabajos han destacado la importancia del marcador plasmático beta-D-glucano.

#### Objetivos:

Valorar la utilidad de determinados biomarcadores: 1,3 beta-D-glucano (BG), anticuerpos antimicelios (AMC), proteína C reactiva (PcR) y procalcitonina (PCT), en el diagnóstico de la candidiasis invasiva (CI).

#### Material y Métodos:

Estudio se 176 pacientes adultos afectos de patología abdominal complicada. Dos veces por semana cultivos de vigilancia de colonización candidiásica (frotis perirectal, aspirado traqueal y orina) y determinación de biomarcadores: BG (Fungitell® assay), AMC (Vircell®Kit), PcR y PCT medidos por quimioluminiscencia en el Cobas 6000 (Roche Diagnostics).

Clasificación de pacientes: Candidiasis invasiva (CI), colonización candidiásica (CC) y no colonizados/infectados (NC/I).

Se utilizaron los valores máximos de estos biomarcadores en el momento o justo antes del evento de la CI, y en el resto de los pacientes, el máximo de todas las determinaciones realizadas.

Para los pacientes con colonización fúngica se obtuvo un modelo de predicción de CI utilizando el procedimiento de árboles de clasificación y regresión (CART) (Breiman L. Wadsworth, 1984), incluyendo en el modelo los biomarcadores y el estado clínico del paciente.

#### Resultados:

Se han analizado un total de 776 muestras en 176 pacientes de los cuales: 31(17,6%) pacientes presentaron CI, 84(47,7%) CC y 61(34,6%) NC/I.

Los valores de BG y AMC eran estadísticamente significativamente mayores en pacientes con: CI vs. CC ( $p=0.003$ ) ó NC/I ( $p<0.001$ ).

Los valores de PCR; fueron 248(142-373) en NC/I; 241(125-383) en CC Y 283 (177-426) en CI ( $p=0.411$ ). Los valores de PCT fueron 1.25 (0.33-5.0) en NC/I; 0.59 (0.3-7.14) en CC y 3.33 (0.74-6.34) en CI ( $p=0.179$ ).

#### Conclusiones:

Los valores de PCR y PCT no resultaron de utilidad para el diagnóstico de candidiasis invasiva.

Los niveles séricos de BG < 259 pg/ml, asociados a AMC negativos excluyen su presencia.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 133

### RELACION ENTRE LOS NITRITOS Y LA BILIRRUBINA EN ORINA EN PACIENTES CON PROBLEMAS HEPATICOS

Autor/a/s: Alvarez Aller, Julia; Sampayo Novoa, Paula; Canedo Gómez, Angeles

Centro de trabajo: Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña

Provincia: A Coruña

Correo electrónico del primer firmante: Julia.Alvarez.Aller@sergas.es

#### Introducción:

La literatura publicada indica que la especificidad de los nitritos en orina para las infecciones del tracto urinario es alta (85 – 90 %) pero en el estudio realizado en el Complejo Hospitalario Universitario de La Coruña, hemos encontrado una aparente asociación entre la bilirrubina elevada en orina y los nitritos positivos en la misma en pacientes con problemas hepáticos, sin que existiese en dichos pacientes infección del tracto urinario, es decir, falsos positivos en los nitritos. Estudiando y determinando las correlaciones entre bilirrubina en orina y nitritos de la misma, junto con la observación de gérmenes en el sedimento urinario, verificamos nuestro objetivo: comprobar si la especificidad del test disminuye al elevarse las concentraciones de bilirrubina en orina.

#### Métodos:

Analizamos durante un mes y medio, en el laboratorio de atención continuada de dicho hospital, las orinas de 400 pacientes con problemas hepáticos, dividiéndolos en tres grupos según la concentración de bilirrubina en orina: 1º) 0-1 mg / dl, 2º) 1 – 3 mg / dl, 3º) >3 mg / dl. A dichas muestras les procesamos una tira reactiva de Combur 10 test en el fotómetro Cobas u 411 de Roche, registrando las concentraciones de bilirrubina y los nitritos positivos de dichas tiras y realizando aparte el sedimento urinario para observar la presencia de gérmenes, creando una tabla con estas determinaciones.

#### Resultados:

Si de todos es sabido, por la literatura publicada y como anteriormente mencionamos que la presencia de nitritos en orina indica una infección del tracto urinario, causada por bacterias gram – que reducen los nitratos (NO<sub>3</sub>) a nitritos ( NO<sub>2</sub> ) como parte de su actividad metabólica normal, (a excepción de los gérmenes que reducen los nitratos a amoníaco, óxido nitroso, óxido nítrico y nitrógeno dando resultados de falsos negativos en orina), en nuestro estudio nos hemos encontrado que los pacientes que presentan problemas hepáticos y por tanto, llevan asociada una concentración alta de bilirrubina en orina (pacientes normales :valor de bilirrubina en orina = 0.02 mg / dl ), los nitritos daban falsos positivos, por tanto, la especificidad del test para estos pacientes disminuía, con un intervalo de confianza del 95 % ( $P < 0,0001$ ).

No observamos variaciones significativas en la sensibilidad diagnóstica.

Sensibilidad del test = Pacientes enfermos (VP) / Pacientes enfermos (VP) + ( FN )

Especificidad diagnóstica = pacientes sanos (VN) / Pacientes sanos (VN)

#### Conclusiones:

La especificidad de los nitritos en las tiras reactivas en orina para detectar infecciones del tracto urinario decrece en función de la concentración de bilirrubina en dicha orina.

Por tanto, asumiendo el hecho de que la presencia de bilirrubina en orina produce falsos nitritos positivos en las tiras, tras la comprobación con el sedimento urinario de no existir gérmenes en las muestras analizadas, sólo nos queda pensar que existe una interferencia de color (el color verde o marrón que presentan estas orinas), a pesar de que dichas tiras reactivas sean un método estándar utilizado desde hace más de cien años y tras haber pasado sus rigurosos controles de calidad y parezca por ello, un hecho improbable.

Hemos tenido también en cuenta durante el estudio que, la recogida de muestras fuese correcta, es decir, orinas recientes, por eso hemos hecho el estudio con muestras remitidas al laboratorio de atención continuada para evitar la máxima exposición a la luz, pues ésta aceleraría la oxidación de la bilirrubina a biliverdina, la cual no produce reacción en las tiras y por consiguiente, obtendríamos falsos negativos. También hemos vigilado que la recogida fuese realizada en las mejores condiciones de asepsia para evitar posibles contaminaciones.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 136

### COMPARACION DE VALORES PARA LA BILIRRUBINA TOTAL EN SUERO EN SERVICIO DE NEONATOLOGIA Y SERVICIO DE URGENCIAS.

Autor/a/s: Angela Aguilar Montesinos, Yolanda Cabrera Esteban, María del Mar Viloria Peñas

Centro de trabajo: Hospital Universitario de Valme

Provincia: Sevilla

Correo electrónico del primer firmante: yld70@hotmail.com

#### Introducción:

La ictericia en el Recién Nacido, la mayor parte de los casos, es un hecho fisiológico causada por una hiperbilirrubinemia de predominio indirecto secundario a inmadurez hepática e hiperproducción de bilirrubina. Aunque suele ser un cuadro benigno y autolimitado que desaparece generalmente antes del mes de edad motiva gran cantidad de consultas en las Urgencias de Pediatría siendo la causa más frecuente de ingreso hospitalario durante las dos primeras semanas de vida.

Recientemente en nuestro hospital se ha instalado la bilirrubina como parámetro POCT en el gasómetro de la Unidad de Neonatología

## Objetivo:

Comparar los valores de bilirrubina total obtenidos en el gasometro de la Unidad de Neonatología con los valores obtenidos en el analizador del laboratorio de Urgencia utilizando dos tipos de muestras (plasma vs.sangre total).

## Material y Método:

Se ha analizado un total de 71 pacientes a los que se les extrajo simultáneamente un tubo de heparina de litio y una jeringa de gasometría para la determinación de bilirrubina total. El tubo de heparina de litio tras centrifugar se analizó en el COBAS 6000 (Roche Diagnostics) y en el gasómetro GEM Premier 4000 (Isaza). La jeringa de Gasometría se analizó en el citado gasómetro. Para el calculo estadístico se utilizó el programa SPSS. Estos resultados son preliminares puesto que vamos a seguir realizando la comparación aumentando el numero de muestras para el estudio.

## Resultados:

Cuando se compara los resultados de bilirrubina obtenidas entre la jeringa de gasometría analizada en el gasometro y los tubos de heparina de litio analizado en el autoanalizador de bioquímica, se obtiene un índice de Correlación de Pearson de 0.138 ( $p=0.250$ ). El análisis de fiabilidad Alfa de Cronbach fue de 0.193. estos datos nos indican que no existe ninguna clase de correlación entre los datos obtenidos en los dos equipos.

Al comparar los valores de bilirrubina en plasma obtenidas entre los dos equipos, se obtiene un índice de Correlación de Pearson de 0.834 ( $p<0.0005$ ).La recta de regresión obtenida para ambos valores:

Suero(cobas)=-0.062+0.74\*Suero (gasómetro) El análisis de fiabilidad Alfa de Cronbach fue de 0.91. Estos datos nos indican que existe concordancia entre los datos obtenidos en los dos equipos para la muestras de suero.

## Conclusiones:

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos al comparar los valores obtenidos entre la jeringa de gasometría y el plasma, el control de los pacientes debe realizarse siempre con el mismo equipo, bien usando jeringa de gasometría para analizar en el gasometro o plasma para enviar al servicio de bioquímica. La diferencia obtenida en los resultados se puede explicar porque por un lado son metodología distintas y también porque la matriz de la muestra no es la misma (plasma vs sangre total).

Cuando se analizan los datos obtenidos al comparar los resultados de bilirrubina obtenido en heparina de litio en los dos equipos podemos concluir que los resultados de ambos equipos se correlacionan. Estos datos son importantes para la práctica diaria del laboratorio de Urgencias porque te permiten solucionar incidencias utilizando cualquiera de los equipos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 137

## ESTUDIO COMPARATIVO DE DOS MÉTODOS BIOQUÍMICOS EN LA DETERMINACIÓN DE CYFRA- 21.1

Autor/a/s: Prieto Sainz, Belén; Fuentes Rebollo, Carmen; Revenga Prieto, Jesús; Bustamante Bustamante, Rosa; Aguirre Gervás, Beatriz; Crespo Sanjuán, Jesús.

Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario

Provincia: Valladolid

Correo electrónico del primer firmante: belenprisa@yahoo.es

## Introducción:

El Cyfra-21.1 es un marcador tumoral perteneciente a la familia de las citoqueratinas.

## Objetivos:

Evaluar la correlación existente entre los niveles del marcador tumoral Cyfra-21.1.

## Material y Métodos

En 60 muestras consecutivas, procedentes de peticiones analíticas de rutina de diferentes servicios de nuestro hospital, se determinaron los niveles de Cyfra 21.1 por técnicas de Quimioluminiscencia de micropartículas y Electroquimioluminiscencia, respectivamente.

## Resultados:

Se realizó un estudio de Passing- Bablock con los siguientes resultados:

Coefficiente de correlación:  $r=0,9745$ ,  $p<0,0001$  IC 95% (0,9587; 0,9843).

## Conclusiones:

La determinación bioquímica del Cyfra-21.1 no presenta diferencias significativas entre ambos analizadores, lo que sugiere que ambos sistemas son útiles para cuantificar este marcador tumoral en las analíticas de rutina.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 138

## HEMOGLOBINA GLUCOSILADA

Autor/a/s: M<sup>a</sup>CAPILLA ORTEGA PEREA ANA AGUDO MORENO ANTONIA MONTENEGRO CORREDERA JOSE MANUEL HURTADO RAMOS M<sup>a</sup>FRANCISCA MUÑOZ MARIN JUANA MORAL MORAL M<sup>a</sup>CATALINA BALBIN ARANEGA

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO SAN AGUSTIN DE LINARES

Provincia: JAEN

Correo electrónico del primer firmante: coperea@hotmail.com

## Objetivo:

De acuerdo con la OMS (Organización Mundial de la Salud) La población mundial de los diabéticos ha pasado de 30 millones en 1985 a 220 millones en 2009 y con un aumento esperado a 336 millones en 2030 teniendo en la actualidad consideración de epidemia de diabetes. Hemos realizado el estudio de determinaciones de HbA1c realizadas y así conocer el coste que suponen.

## Introducción:

La hemoglobina glucosilada refleja la concentración de glucosa en el paciente durante los últimos 3-4 meses, la vida media del hematie.

Desde el descubrimiento de la HbA1c (Hemoglobina glucosilada) se ha conformado como el mas fiel indicador en el monitoreo de las fluctuaciones de los pacientes diabéticos. La ADA(American diabetes association)estandariza su determinación y establece tres puntos de corte de HbA1c: < 5.6% nivel no diabético, entre 5.7-6.4% nivel prediabético, >=6.5% nivel compatible con el diagnostico de diabetes.

## Material y Métodos:

Para la determinación del estado diabético por HbA1c utilizamos el método de HPLC (High performance liquid chromatography) recomendado como método de referencia por la ADA. Como consecuencia de las nuevas recomendaciones de organismos internacionales: OMS, ADA,NGSP(Nacional Glycohemoglobin Standardization Program), DCCT(Diabetes Control and Complications Trial), por las que la determinación de HbA1c no sólo se utiliza en el control del paciente diabético sino en el diagnóstico de la diabetes; por ello se han incrementado las determinaciones de hemoglobina glucosilada con un aumento del coste soportado por el laboratorio de análisis clínicos con un precio para este laboratorio de 3 euros/determinación. Exponemos este efecto y su coste entre el periodo comprendido en los años 2010 y 2011.

## Resultados:

El total de determinaciones que se llevan a cabo en 2010 es de 13935, con un coste de 41805 €; siendo enviadas 13934 y presentando el siguiente parcial mensual: Enero recibidas y enviadas 1038, febrero recibidas 1123 y enviadas 1122, marzo recibidas y enviadas 1246, abril 1170, mayo 1245, junio 1388, julio984, agosto 739, septiembre 1242, octubre 1273, noviembre 1431 y diciembre 1056.

Durante el año 2011 el total de HbA1c es de 11386, siendo su coste económico de 34158 €, con los siguientes resultados mensuales: Enero recibidas 1132 y enviadas 1132, febrero 1039, marzo 1223, abril 821, mayo recibidas 1091 y enviadas 1038, junio 1098, julio 723, agosto 567, septiembre 874, octubre 1053, noviembre 966 y diciembre recibidas 799 y enviadas 798.

## Conclusiones:

En 2011 se observa una disminución al normalizar su determinación sólo al seguimiento de los estados diabéticos, no utilizada para diagnostico de DM I o II, glucemia basal alterada en ayudas e intolerancia a la glucosa.

Podemos apreciar una diferencia mínima entre las pruebas recibidas y los resultados enviados, debida a la imposibilidad de medir la concentración de HbA1c, a causa de razones intrínsecas a las muestras.

El descenso en la realización de determinaciones de HbA1c va acompañado del consecuente ahorro económico, con lo que esto supone para el sistema.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 140

## HORMONAS TIROIDEAS

Autor/a/s: Marlasca Gallego, María del Mar y Pérez Santamaría, Lourdes Yolanda; Pinar Irazo, Jose Ignacio

Centro de trabajo: Hospital Universitario Miguel Servet

Provincia: Zaragoza

Correo electrónico del primer firmante: namar2@hispanvista.com

## RESUMEN:

HORMONAS TIROIDEAS

## INTRODUCCIÓN:

El tiroides es la mayor de las glándulas endocrinas del organismo. Se encuentra situado sobre el cartilago tiroides y la porción de la tráquea, insertándose a estas estructuras por la fascia pretraqueal.

En el adulto normal, el tiroides tiene un peso aproximado de 25grs., y un tamaño de 6 x 5 x 2 cm.

Está constituido por dos lóbulos laterales simétricos, que se unen a través de un istmo.

El tiroides humano empieza a desarrollarse a las cuatro semanas aproximadamente después de la concepción, apareciendo en el último tercio de la gestación en su forma lobular y madura que ya contiene folículos

La glándula tiroidea produce y secreta dos hormonas que contienen yodo : la tiroxina (T4) y la triyodotironina (T3). La TSH u hormona estimulante del tiroides regula la secreción tiroidea a partir de la adenohipófisis.

A su vez la secreción de TSH es regulada por la TRH u hormona liberadora de tirotrópina del hipotálamo.

El yodo es el elemento esencial para la biosíntesis de las hormonas tiroideas, siendo la principal fuente la dieta que suministra entre 30 – 50 microgramos/día, y es absorbido por la vía intestinal.

La secreción de T4 y T3 al torrente circulatorio se realiza por difusión de la célula al plasma.

La T3 es de 3 a 5 veces más potente que la T4 y sus efectos se inician más rápidamente y son menos prolongados que los de la T4.

El hígado y el riñón son los dos órganos más importantes donde se produce el catabolismo de las hormonas tiroideas.

## Objetivos:

Valorar el número de muestras de la T3, T4, TSH durante los tres primeros meses del año 2011 en el Hospital Universitario Miguel Servet. Su distribución por sexo y franjas de edad.

## MATERIAL Y MÉTODO:

En este estudio partimos de 30145 muestras de sueros procedentes de distintos servicios de nuestro hospital: urgencias, ucis, plantas, centros de salud, embarazadas de alto riesgo y consultas externas.

Estas determinaciones se realizan el aparato Unicel DXI 800 Acces ImmunoassySystin Beckman Coulter.

Los rangos de normalidad de nuestro laboratorio son:

-T4 libre.....de 0.61 a 1.12 ng/dl.

-T3 total.....de 2.39 a 6.79 pg./ml.

-TSH .....de 0.34 a 5.60 nUi/ml.

## RESULTADOS:

	Hombres	Mujeres	Sin Sexo	Pacientes	Nº peticiones
TSH	8228	21683	104		30073
T3L	1558	4181	28		5768
T4L	7954	21059	90		29122
Total				30145	64953

Las franjas de edad:

Hombres				Mujeres			
x<=25	26<=x<=45	46<=x<=65	66<=x<=99	x<=25	26<=x<=45	46<=x<=65	66<=x<=99
1144	1804	2583	2698	2107	6201	7138	6259

## Conclusiones:

Podemos ver como en todas las franjas de edad hay mayor número de mujeres que de hombres. En las franjas de edad más jóvenes podría ser consecuencia de las peticiones a las embarazadas de alto riesgo pero en las franjas de mayor edad también el número es mayor. Así mismo podemos comprobar que los resultados patológicos también corresponden en mayor número a las mujeres.

	Hombres	Mujeres
TSH	448	1727
TH3	5	17
TH4	840	1708

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 141

## UTILIDAD DE LA DETERMINACION DE GRASA EN HECE EN EL LABORATORIO DE BIOQUIMICA

Autor/a/s: Angela González Santos, Carmen Miguel Del Corral, Antonio Zafra Fernández, Almudena Marugán Pérez, María Herrero Berrocal, Elena Hernández Alvarez, Aránzazu Martín García.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA HIERRO MAJADAHONDA

Provincia: MADRID

Correo electrónico del primer firmante: angelags16@hotmail.com

## Introducción:

La malabsorción y la malabsorción son síndromes frecuentes en diversas patologías gastrointestinales. En la práctica clínica tiene gran interés, la cuantificación de los nutrientes fecales para evaluar el diagnóstico y seguimiento de estas enfermedades. Los trastornos que impiden una adecuada emulsión de los alimentos con el jugo gástrico y con las enzimas digestivas pueden interferir con la digestión (pancreatitis, fibrosis quística, obstrucción de las vías biliares...). Por otro lado, los trastornos que lesionan el revestimiento intestinal pueden interferir con la absorción. El análisis cuantitativo de grasa, nitrógeno, almidón y agua fecal, es un método no invasivo que puede valorar tanto la digestión como la absorción de nutrientes. Los métodos clásicos para la determinación de grasa fecal (Van de Kamer), nitrógeno (Kjeldahl) y agua (gravimetría por liofilización) tienen inconvenientes que son solventados por el método basado en espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo. Se presenta como alternativa metodológica a estas técnicas clásicas de análisis de heces.

## OBJETIVO:

Relacionar los resultados obtenidos tras el análisis de la composición en heces así como otros parámetros bioquímicos en suero, con los diagnósticos de defectos en la absorción o en la digestión con mayor prevalencia en el Area sanitaria que comprende el Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se incluye a 45 pacientes a los que se les solicita el análisis de composición de heces en 24 horas, en un período de 6 meses. A los pacientes se les proporciona en el laboratorio el envase de recogida de muestra previamente pesado así como las instrucciones de recogida. A todos los pacientes se les determina en suero las enzimas pancreáticas amilasa y lipasa (Advia, Siemens) para un posible diagnóstico de insuficiencia pancreática exocrina. En 6 pacientes se realiza el test de xilosa (determinación de Fehling) con orina de 5 horas tras ingesta de 25 gramos de xilosa; solicitado en pacientes con sospecha de malabsorción. A 30 pacientes se les determina además la concentración de proteínas totales en suero. En 10 pacientes se solicita además proteína C reactiva, cromogranina y AST/ALT (Siemens). Para el análisis de heces, se dispone de un análisis de reflectancia de infrarrojos (Fenir 8820, Alerbio); este método se basa en la medida de la radiación del espectro infrarrojo en una muestra aislada de las heces.

## RESULTADOS:

De los pacientes estudiados, un 58,6 % son mujeres y un 41,4% hombres. El rango de edad es desde meses de vida hasta los 80 años. La sospecha de diagnóstico mayoritaria en niños de 0 a 10 años es fibrosis quística (76%) y celiaquía (16%). La sintomatología más frecuente incluye fiebre y diarrea. En adultos los diagnósticos mayoritarios son resección gástrica (40%) y celiaquía (20%) y la sintomatología es diarrea y pérdida de peso. Las heces de pacientes con fibrosis quística tienen cantidades superiores de composición en grasa (>6 gramos/24 horas) en el 56 % de los casos. Las heces procedentes de pacientes con resección gástrica presentan exceso de proteínas (>8% del peso de las heces en 24 horas), grasa (>6%) y almidón (>15%) en un 76% de los casos. En el caso de pacientes con insuficiencia pancreática exocrina, un 33 % de los casos presentan disminuidas las actividades séricas de las enzimas amilasa y lipasa (<30m U/L). De los pacientes con sospecha de fibrosis quística, un 26% presentan cantidades elevadas de grasa en heces (>6 gramos/24 horas). De los 6 pacientes a los que se les realiza el test de xilosa, dos tienen disminuida la eliminación de xilosa por orina (<25 %) y diagnóstico final de malabsorción.

## Conclusiones:

Ante la dificultad del diagnóstico de fibrosis quística en niños y la gravedad de la patología, se demuestra el valor que aporta la determinación de grasa en heces para su evaluación. Por sí sola presenta baja especificidad, así como la determinación de amilasa y lipasa baja sensibilidad, pero en combinación con la clínica y otras pruebas médicas, su aportación es mucho mayor. En el caso de pacientes con resección gástrica, el análisis de la composición de heces presenta una sensibilidad y especificidad aceptable para la valoración y seguimiento de los pacientes. Para el resto de patologías, con los pacientes estudiados no se observan aportaciones importantes al diagnóstico con el estudio de la composición de heces.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 144

## IMPORTANCIA DE LA TROPONINA ULTRASENSIBLE EN EL SERVICIO DE URGENCIAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO

Autor/a/s: Carmen San Juan Ponce; Teresa Morillo Vega; Cándida Calleja Calleja; Mercedes Gonzalez Aguado; Nieves Saiz Iñiguez; Estrella Fernandez Santos

Centro de trabajo: Hospital Virgen de la Concha (Complejo Asistencial de Zamora)

Provincia: Zamora

Correo electrónico del primer firmante: jorcarjul@gmail.com

## INTRODUCCIÓN

El Hospital "Virgen de la Concha" de Zamora realiza de modo rutinario desde hace 15 meses, la determinación de la Troponina T ultrasensible (TnT<sub>hs</sub>) como marcador de elección de necrosis miocárdica en pacientes con Síndromes Coronarios Agudos (SCA) y en el diagnóstico de Infarto Agudo de Miocardio (IAM), permitiendo predecir de forma más precisa que otros marcadores, que pacientes son los que tienen un riesgo mayor de padecer nuevos eventos, aún cuando la elevación de Troponina sea muy pequeña. La TnT<sub>hs</sub> aumenta aproximadamente 3-4 h tras Infarto Agudo de Miocardio y puede permanecer elevada hasta 2 semanas; una de las ventajas es la rapidez con la que se puede detectar la presencia de micronecrosis y el valor predictivo negativo que posee para descartarla.

## OBJETIVO:

Importancia de la Troponina T ultrasensible determinada en muestras de pacientes que acuden al Servicio de Urgencias con Dolor Torácico.

## Material y Métodos:

Se realiza un estudio retrospectivo durante un periodo de 10 meses (Mayo 2011-Febrero 2012) de 97 pacientes, en muestras de plasma recibidas en el Laboratorio de Bioquímica de Urgencias, procedentes del Servicio de Urgencias del mismo hospital. En todas las muestras estudiadas, el diagnóstico de sospecha era "Dolor Torácico". El estudio incluye 64 hombres y 33 mujeres, con una media de edad de 64 años. Los pacientes se clasificaron en tres grupos, en función del nivel de TnT<sub>hs</sub> y del sexo, estudiando si evolucionaban o no hacia Infarto Agudo de Miocardio. La Troponina T se determinó cuantitativamente en plasma humano mediante un test inmunológico ultrasensible in vitro (Test Elecsys TnT<sub>hs</sub> STAT)

## RESULTADOS:

De los 97 pacientes estudiados se observó que un 66 % presentaron probabilidad baja de IAM, un 14,4 % probabilidad media de IAM y un 19,6 % probabilidad alta de IAM. A 47 pacientes (48,5 %) sólo se les hizo una determinación de TnT<sub>hs</sub> porque se obtuvo un valor de la misma por debajo del nivel de baja probabilidad de IAM (<14 ng/L) no necesitando realizar más seguimiento, a los 50 pacientes restantes (51,5 %) se les hizo determinaciones seriadas de TnT<sub>hs</sub> al obtenerse resultados de la TnT<sub>hs</sub> > 14ng/L (nivel de probabilidad de IAM) de las determinaciones seriadas el 40,2 % de los pacientes no evolucionaron a IAM, (de los cuales 22 tenían probabilidad baja, 6 probabilidad media y 11 probabilidad alta) y un 11,3 % sí evolucionaron a IAM (2 pacientes con probabilidad baja, 1 con probabilidad media y 8 con probabilidad alta de IAM)

## CONCLUSIÓN:

La Troponina T ultrasensible permite detectar infartos más pequeños y más precozmente. La utilización de este método reduce la posibilidad de que un paciente con IAM, pudiese ser diagnosticado de forma inadecuada en Urgencias por no presentar síntomas. La Troponina T ayuda a optimizar el manejo de los pacientes, permitiendo iniciar los tratamientos específicos más precozmente y acortar las estancias en los Servicios de Urgencias, contribuyendo a mejorar la eficiencia asistencial.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 147

## VALORACIÓN DE PARÁMETROS INDICADORES DEL EQUILIBRIO ÁCIDO-BASE EN EL TIEMPO

Autor/a/s: BARQUERO CAMPOS DOLORES, BARO ROMÁN FRANCISCA, GARCIA NAVARRO CRISTINA, ARREBOLA RAMIREZ MARÍA MONSALUD, DIEZ DE LOS RÍOS CARRASCO MARÍA JOSÉ.

Centro de trabajo: H.R.U. CARLOS HAYA

Provincia: MALAGA

Correo electrónico del primer firmante: antesque@hotmail.com

## Introducción:

El pH es una medida indispensable para valorar acidemia o alcalemia, siendo por tanto una medida esencial de los gases en sangre. El funcionamiento normal de muchos procesos metabólicos requiere que el pH se encuentre dentro de un rango relativamente estrecho. Por su relación con la pCO<sub>2</sub> el pH se considera que tiene un componente respiratorio, y por su relación con la concentración de bicarbonato en plasma (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) y el exceso de base estándar (EBE) se considera que tiene un componente metabólico, pudiendo distinguirse entre desequilibrios respiratorios y metabólicos. La pCO<sub>2</sub> se define como la presión parcial de dióxido de carbono en la fase gaseosa en equilibrio con la sangre. Los valores altos y bajos de pCO<sub>2</sub> en sangre arterial indican hipercapnia e hipocapnia respectivamente. La pCO<sub>2</sub> es una medida directa de la idoneidad de la ventilación alveolar en relación con el índice metabólico. El HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> es la concentración de bicarbonato en el plasma de la muestra. Se calcula utilizando los valores de pH y pCO<sub>2</sub>. Un nivel alto podría ser debido a una alcalosis metabólica o a una respuesta compensatoria en la acidosis respiratoria. Los niveles bajos se observan en acidosis metabólicas y como mecanismo compensatorio en la alcalosis respiratorio.

## Objetivos:

El principal objetivo de este trabajo reside en valorar posibles modificaciones en la valoración de pH, pCO<sub>2</sub> y HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> a lo largo de una hora y con distintos dispositivos (jeringas de distintas casas comerciales) en un Laboratorio de Urgencias, ya que cualquier tipo de modificación en los resultados puede resultar crítico para el paciente. Se toma como intervalo de tiempo 1 hora, pues el tiempo máximo permitido para dar respuesta en un Laboratorio de Urgencias.

## Metodología:

Se analizaron 20 muestras sanguíneas con jeringas tipo PICO de Radiometer realizándose la lectura de resultados en tiempo basal, a los 10 min, 15 min, 20 min, 25 min, 30 min y 60 min mantenidas sobre bandeja de hielo. De igual forma se analizaron otras 20 muestras con otro tipo de jeringa y siendo analizadas en los mismos intervalos de tiempo. Los gasómetros utilizados para la medición de gases en sangre son los ABL800 FLEX de Radiometer. Se analizaron preferentemente aquellas gasometrías que llegaron por el tubo neumático por la rapidez de llegada tras la obtención de la muestra, evitando así errores de tipo preanalíticos.

## Resultados:

Media de las diferencias	Jeringas PICO (n=20)	Otro tipo de Jeringa (n=20)
pH (t=60 min)	-0.0039	-0.0089
pCO <sub>2</sub> (t=60 min)	2,97	4,38
pCO <sub>2</sub> (t=20 min)	0.81	1.73
pCO <sub>2</sub> (t=15 min)	0.12	0.93
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (t=60 min)	1,62	2,26
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (t=30 min)	1.22	0.92
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (t=25 min)	0.88	0.72

El porcentaje de Error Total Deseable para el pH es del 3.6%, siendo el intervalo medido de 7.024 a 7.509, el error máximo deseable tiene que ser < 0.25, obteniéndose resultados 100 veces menores con ambas jeringas. El porcentaje de error total deseable para la pCO<sub>2</sub> es del 5.7%, el intervalo medido está entre 27,9 mmHg y 97.6 mmHg, con lo cual el error máximo deseable debe ser < 1,59 mmHg. En este parámetro sí que hay variación de resultados tras 1 hora de la recepción de muestras. Para alcanzar los niveles de calidad deseables habría que analizar la muestra como máximo a los 20-25 min para la jeringa PICO, y entre 15-20 min para el resto de las jeringas. Teniendo en cuenta los mismos criterios de calidad del pCO<sub>2</sub> para el HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (ya que es un cálculo entre pH y pCO<sub>2</sub>), y siendo el intervalo medido entre 19.6 mmol/L y 42.1 mmol/L, el error máximo permitido debe ser < 1.11 mmol/L. La medición de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> debe realizarse entre los 25-30 min.

## Conclusiones:

De los tres parámetros evaluados para determinar el equilibrio ácido-base de un paciente, destaca que la medición de pH es la más estable en el tiempo e independiente del tipo de dispositivo utilizado. Tanto el HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> como la pCO<sub>2</sub> requieren ser analizados en un tiempo inferior a 1 hora para mantener los criterios de calidad.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 152

## GLUCEMIAS, GLUCOSURIAS Y HEMOGLOBINAS GLICOSILADAS. RELACION Y CONTROL.

Autor/a/s: Urcia Rozas, Carlota; Barachina Carranza, Susana, Sancho García, Alejandra; Belenguera García, Pilar y Olivan Felipe Teresa.

Centro de trabajo: Servicio Analisis Clinicos Hospital Royo Villanova Localidad:.

Provincia: ZARAGOZA

Correo electrónico del primer firmante: cur80@hotmail.com

## Introducción:

La diabetes es un trastorno metabólico crónico de gran alcance epidemiológico que requiere un tratamiento y seguimiento de por vida. La obtención de un adecuado control metabólico reduce, entre otras, las enfermedades cardiovasculares, nefropatías y neuropatías.

El análisis de los niveles de glucemia y HbA1c permite evaluar el estado de control metabólico de los pacientes diabéticos.

La fracción A1c de la Hemoglobina glicosilada, es un producto de la interacción de la glucosa sanguínea con la hemoglobina eritrocitaria y se caracteriza por no estar controlada genéticamente.

## OBJETIVO:

Este estudio tiene por objetivo, valorar la tasa de glucemia, en relación a la HbA1c (sus variantes, Hb fetal) y glucosurias recogidas en el perfil de control de diabetes, de nuestra Área de influencia

## Material y Métodos:

Se realizó un estudio retrospectivo, de las glucemias (en ayunas), y los resultados de HbA1c y glucosurias realizados a pacientes, asistidos en el Servicio de Análisis Clínicos del Hospital "Royo Villanova" del Sector I del Servicio Aragonés de Salud de Zaragoza, durante el año 2011.

El nº de pacientes incluidos en el estudio es de 771 con edades comprendidas entre 11 y 91 años.

Las muestras de suero fueron procesadas en un analizador Cobas®-711 de Roche.

Las muestras de sangre completa con EDTA para HbA1c fueron procesadas en HA-8160® HPLC de Menarini.

Las orinas fueron procesadas en un analizador Cobas-311® de Roche.

## Resultados:

HbA1c %	GLUCEMIA mg/dL	MUJERES	VARONES	TOTALES
4	24 (6.42%)	4 (3.96%)	28 (3.63%)	
5	97	37 (9.89%)	15 (3.79%)	52 (6.74%)
6	126	16 (4.28%)	12 (3.03%)	28 (3.63%)
7	154	64 (17.11%)	95 (23.99%)	159 (20.62%)
8	183	144 (38.50%)	154 (38.89%)	298 (38.65%)
9	212	41 (10.96%)	61 (15.40%)	102 (13.22%)
10	240	28 (7.49%)	27 (6.82%)	55 (7.13%)
11	269	15 (4.01%)	17 (4.29%)	32 (4.15%)
12	298	5 (1.34%)	11 (2.78%)	16 (2.07%)
		374 (100%)	396 (100%)	770 (100%)

De los 770 pacientes:

1.-628 tienen valores de glucemia superiores a 106 mg/dl

2.-226 presentan glucosuria positiva ( de éstos, el 94.2% tienen una glucemia superior a 106 mg/dl).

3.-Respecto a los valores de HbA1c:

- 74 presentan unos valores comprendidos entre 4.10%-5.8%, no se observa glucosuria.
- 696 presentan unos valores iguales o superiores a 5.9%, presentando 212 glucosuria positiva.

4.-Respecto a los valores de Hemoglobina Fetal, 114 pacientes presentaron un valor  $\geq$  al 1.1%, de estos:

- 102 pacientes presentaron un HbF comprendida entre 1.1% - 1.9%
- 8 pacientes presentaron una HbF comprendida entre 2% - 2.9%
- 3 pacientes presentaron una HbF comprendida entre 3% - 8%
- Con HbF >8% se observó un paciente

5.-La cumplimentación de datos de diagnóstico es fundamental en un buen SGC consignando en el SIL del Servicio:

- 327 diagnosticados como Diabetes Mellitus (138 como DM, 11 como DM tipo I y 175 DM tipo II).
- 23 con otros diagnósticos.
- 417 sin especificar diagnóstico.

## Conclusiones:

1.-Según los valores de referencia, el 59.27% de los pacientes a estudio se encuentran en un control aceptable.

2.-No se aprecia diferencia de valores significativos en relación con el sexo.

3.-De los pacientes con glucosuria positiva (29.35%), únicamente el 5.8% tiene cifras de glucemia compatibles con la normalidad.

4.-De todos los pacientes estudiados el 42.47% estaban previamente diagnosticados de Diabetes Mellitus (DM).

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 153

## ESTUDIO COMPARATIVO DEL COMPORTAMIENTO GLUCÉDICO EN GESTANTES, DURANTE SUS DISTINTOS EMBARAZOS.

Autor/a/s: Barrachina Carranza, Susana; Urcia Rozas, Carlota; Belenguer García, Pilar y Sancho García, Alejandra.

Centro de trabajo: CME.Grande Covian.SECTOR I

Provincia: zaragoza

Correo electrónico del primer firmante: sb.carranza@hotmail.com

## Introducción:

La Diabetes Gestacional es una alteración en el metabolismo de los hidratos de carbono que se detecta por primera vez durante el embarazo, y se traduce en una insuficiente adaptación a la insulinoresistencia que se produce en la gestante.

En la actualidad se recomienda hacer un cribado de la Diabetes Gestacional mediante el test de O'Sullivan entre la semana 24-28 de gestación, ya que es el momento de máxima rentabilidad diagnóstica.

En nuestro caso hemos estudiado las gestantes atendidas en nuestro servicio durante el año 2011 y los resultados de los mismos parámetros obtenidos en embarazos anteriores.

## Objetivos:

Nuestro objetivo ha sido evaluar el comportamiento de los parámetros de control glucídico para distintos embarazos de las mismas gestantes.

## Material y Métodos:

Estudio realizado durante el año 2011 en el Servicio de Análisis Clínicos del Hospital "Royo Villanova" del Servicio Aragonés de Salud con un total de 1.400 mujeres embarazadas con edades comprendidas entre 20 y 43.

En el estudio incluye 122 mujeres gestantes a las que se realizó test de O'Sullivan durante el año y se ha valorado el comportamiento de dicho test en aquellas que en nuestro histórico del SIL nos constaba un embarazo anterior. El procedimiento utilizado por nosotros incluye valoración de glucosuria en la primera micción inmediatamente posterior a la SOG y comportamiento de hemoglobina glicosilada.

Las muestras de suero fueron procesadas en un analizador Cobas®-711 de Roche.

Las muestras de sangre total con anticoagulante EDTA se procesaron en HA-8160® HPLC de Menarini.

Las orinas se procesaron en un analizador Cobas®-311 de Roche.

## Resultados:

De las 122 gestantes:

1.-Dieron O'Sullivan negativa 50 de ellas, siendo también negativo en el hijo anterior (la glucosuria post-curva fue negativa en 30 mujeres).

2.-48 dieron positiva la glucosuria en el hijo anterior y en el embarazo del 2011.

3.-12 dieron glucosuria negativa en el hijo anterior y positiva en el 2011.

4.-14 dieron glucosuria positiva en el hijo anterior y negativa en el 2011.

5.-15 mujeres también se les realizó S.O.G de 100 grs por existir criterios de positividad presentando también positividad en el hijo anterior. Los datos que motivaron la realización de dicha prueba fueron los siguientes:

- Con tasa > 140 mg/dl a los 60 min: 12 gestantes
- Con tasa > 140 mg/dl a los 60 y 120 min: 2 gestantes
- Con tasa > 140 mg/dl a los 60-120 y 180 min: 1 gestante

La media de los valores entre ambos hijos fue:

	Ant (1º hijo)	2011 (2º hijo)
<b>Basal</b>	80.05	86.40
<b>60 min</b>	177.60	169.70
<b>120 min</b>	159.30	145.00
<b>180 min</b>	121.40	132.00

6.-8 mujeres presentaron signos de diabetes evidentes en el hijo anterior, y se procedió a revisión post-parto en 2011, con S.O.G. de 75 grs de glucosa, siendo los resultados obtenidos los siguientes:

- Glucemia negativa y glucosuria negativa: 5 mujeres
- Glucemia negativa y glucosuria positiva: 2 mujeres
- Glucemia positiva y glucosuria negativa: 1 mujer

El tiempo medio transcurrido desde el parto hasta la S.O.G. de 75 grs fue de 6.2 meses.

6.-En todos los test de O'Sullivan realizados en 2011 se les realizó también la hemoglobina glicosilada obteniendo una tasa media de 5.55%  $\pm$  1.05. El histograma de HPLC para hemoglobinas glicosiladas identifica fracción HbF en un paciente.

## Conclusiones:

1º - El 40.98 % de las mujeres estudiadas sin signos de diabetes, presentaron en los dos embarazos un comportamiento homogéneo de su status glucídico.

2º - El comportamiento dispar del status glucídico en pacientes sin signos de diabetes, no pudo evidenciar diferencias significativas relacionadas con la edad

3º - Las mujeres diagnosticadas como diabéticas en un primer embarazo, no necesariamente presentan evidencias analíticas de diabetes en el siguiente embarazo (62.5 %).

**COMPARACIÓN DE LA HbA1c POR DOS MÉTODOS DIFERENTES**

*Autor/a/s:* DEMETRIA HERNANDEZ BENITO, FREDESVIDA MANGAS GONZALEZ, FLORA SIERRA PUPARELLI, LAURA TEJEDOR TEJEDOR, CARMEN CASADO HERNANDEZ, JUAN CARLOS RODRIGUEZ PEREZ, M. LUISA HERNANDEZ CERCEÑO.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL CLINICO UNIVERSITARIO

*Provincia:* Salamanca

*Correo electrónico del primer firmante:* deme\_hb@hotmail.com

**RESUMEN:**

La HbA1c es el aducto no enzimático, estable de glucosa con el grupo valina amino N terminal de la cadena  $\beta$  de la hemoglobina A. El proceso de formación de la HbA1c estable depende de la vida media de los eritrocitos, aproximadamente 100-120 días. En consecuencia, la concentración de HbA1c permitirá evaluar de forma retrospectiva el grado de compensación de la diabetes durante los 2-3 meses anteriores a la toma de la muestra.

**OBJETIVO:**

Comparar la variabilidad de los resultados obtenidos por dos métodos distintos.

**Material y Métodos:**

Se ha determinado el valor de la HbA1c en 200 muestras en sangre total con EDTA por el método empleado en nuestro laboratorio, cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), por intercambio iónico en fase reserva, con un analizador ADAMS A1a HA-8160, de Menarini Diagnóstics. Y los proporcionados por test de Inmunoensayo turbidimétrico de inhibición, de Roche Diagnostics, con un Cobas Integra 800 en el hospital Virgen de la Concha, de Zamora. Los datos han sido tratados mediante el programa estadístico SPSS 18.0.

**RESULTADOS:**

Hemos comparado los resultados de todas las muestras procesadas por los dos métodos, obteniendo una regresión con  $R^2$  de 0.983. Posteriormente hemos segmentado la muestra en tres categorías dependiendo de los valores obtenidos, tomando como referencia los valores que nos da el método empleado en nuestro laboratorio, cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), de Menarini Diagnóstics, comparando los resultados de las mismas muestras con los proporcionados por test de Inmunoensayo turbidimétrico de Roche Diagnostics, con un Cobas Integra 800 en el hospital de Zamora.

Hemos obtenido una  $R^2$  para la 1ª categoría (HbA1c entre 5-6.01%) de 0.878; para la 2ª categoría (HbA1c entre 6.01-8 %) de 0.907 y para la 3ª (HbA1c >8%) de 0.947.

**CONCLUSIÓN:**

Después de realizar los estudios estadísticos podemos concluir:

- 1.- Que en el análisis global tenemos una  $R^2$  muy buena de 0,983.
- 2.- Realizado el análisis por tramos vemos que en el que mejores resultados de regresión nos da es en el 3 de 0,947, es decir los valores de HbA<sub>1c</sub> más elevados.

**VALORES DE REFERENCIA DE ACIDO FOLICO EN GESTANTES ¿EXISTE DEFICIENCIA?**

*Autor/a/s:* PINA ECHEVARRIA, MARIA JOSE; PEREZ MUÑOZ, ASCENSION; PINA ECHEVARRIA, SILVIA ELENA

*Centro de trabajo:* H. MIGUEL SERVET

*Provincia:* ZARAGOZA

*Correo electrónico del primer firmante:* mariajose20diego@yahoo.es

**Introducción:**

El ácido fólico, folacina, ácido pteroil-L-glutámico (folato= forma aniónica), vitamina B9 o vitamina M es una vitamina hidrosoluble necesaria para la formación de proteínas estructurales y hemoglobina; se encuentra en algunos alimentos enriquecidos y en forma sintética. Las causas de su carencia son la mala alimentación y un déficit de hidratación del folato genético que es asintomático hasta que la mujer se queda embarazada.

Puede prevenir alteraciones placentarias (abortos) y defectos fetales (anencefalia, espina bífida. Por mal cierre del tubo neural, anemia megaloblástica prematuridad. E incluso patología materna – eclampsia-),

Su carencia se debe a una mala alimentación y un déficit de hidratación del folato genético que es asintomático hasta que la mujer se queda embarazada.

**Objetivos:**

Determinar los valores de ácido fólico en gestantes y el posible porcentaje carencial si lo hubiera. A su vez comparar los valores encontrados con los hallados en la población no gestante con las mismas características.

**Material y Métodos:**

Se parte de 137 gestantes de edades comprendidas 17-47 años. La determinación de ácido fólico se realiza por un método competitivo por los receptores de fijación (test Access) en donde el folato en la muestra compete con el conjugado de ácido fólico-fosfatasa alcalina por los lugares de fijación sobre una cantidad limitada de proteína de fijación de folato. La cantidad de analito en la muestra se determina por medio de una curva de calibración de puntos múltiples acumulada. La muestra para comparación es de 2000 mujeres no gestantes.

**Resultados:**

Muestra poblacional de gestantes n= 137; muestra poblacional no gestantes n= 2084 ( con las mismas características que la población de gestación y susceptible de poder tener un embarazo ). Observamos un rango más amplio de valores de referencia en la población no gestante ( 0,36-29,8mg%ml) frente a las gestantes (0,97-27,87mg%ml) Media población gestacional 9,11mg% ml; media población comparativa 5,54mg% ml; desviación estándar en gestantes 4,51mg% ml desviación estándar en población comparativa 3,13mg%ml ; valores en rango de déficit en gestantes 0,97-2,89mg%ml ; valores en rango de déficit en no gestantes 0,36-2,99mg%ml. Porcentaje de déficit en gestantes 5,1% . Porcentaje de déficit en no gestantes 17,47%.

**Conclusiones:**

La diferencia de valores de referencia mas acotadas en la población gestacional se explica por ser una población con control y tratamiento preventivo, y reafirmar este concepto los valores de media y mediana. Existe un porcentaje de carencia de fólico en la población femenina no gestante usada comparativamente, que se deberá de tener en cuenta.

El porcentaje carencial en gestantes es menor, posiblemente debido a la administración sistemática de folatos. No obstante será necesario insistir en el control gestacional de la carencia de ácido fólico por su importancia en la prevención de los defectos de tubo neural

**CORRELACION LINEAL DE CALCEMINA IONICA EN SANGRE TOTAL Y PLASMA HEPARINA DE LITIO**

*Autor/a/s:* Atienza Vera, Ascensión; Merlo Maroro, Josefa y Fuente Requena, Gloria

*Centro de trabajo:* COMPLEJO HOSPITALARIO MANCHA-CENTRO

*Provincia:* CIUDAD REAL

*Correo electrónico del primer firmante:* chonivera@live.com

**INTRODUCCIÓN:**

El Calcio es el catión divalente más prevalente dentro del organismo y es uno de los parámetros más demandados dentro de un Laboratorio de Urgencias debido a su importancia para el funcionamiento sistémico.

El Calcio interviene en la mineralización ósea, preservación de membranas celulares, mecanismos de síntesis de glándulas y en procesos fisiológicos fundamentales como la coagulación, la transmisión neuronal y la actividad enzimática.

El Calcio iónico es la fracción en circulación sanguínea biológicamente activa y aporta información del alta sensibilidad en multitud de patologías con menor número de interferencias que el Calcio total en circulación.

**Objetivos:**

El objetivo de nuestro estudio es verificar las diferencias en los niveles de Calcio iónico mediante potenciometría directa según el tipo de muestra. Empleamos muestras enviadas para estudio de Equilibrio Ácido-Base (sangre total con heparina de Litio) y para parámetros bioquímicos (plasma con heparina de Litio), ambas remitidas al Laboratorio de Urgencias y de un mismo paciente. En ambos tipos de muestra cuantificamos los niveles de Calcio iónico.

**Material y Métodos**

Estudio de forma pareada de 200 muestras de sangre total y 200 muestra de plasma heparina de Litio, remitidas a nuestro Laboratorio de Urgencias durante el mes de diciembre de 2011.

Determinación de niveles de Calcio iónico mediante el autoanalizador ABL 825 FLEX de la casa comercial Radiometer Copenhagen mediante potenciometría directa con el electrodo E7333.

Para el tratamiento estadístico de los datos se empleó el paquete estadístico SPSS.

**RESULTADOS:**

Obtenemos una buena correlación lineal entre los dos tipos de muestras empleados con una ecuación de regresión lineal:

Calcio iónico plasma heparina litio: 0.87 (Calcio iónico sangre total heparina de litio) + 0.35 ( r Sperman 0.983)

**Conclusiones:**

A la vista de los resultados obtenidos y de la recta de regresión se observan diferencias

significativas entre las muestras de sangre total con heparina de Lito y muestras de plasma con heparina de Lito.

Los resultados de sangre total en todos los casos resultaron de mayor valor que los casos de plasma con heparina de Lito.

Deben de establecerse para ambos tipos de muestras valores de referencia poblacionales distintos para la confirmación del rango de normalidad poblacional informado por la casa comercial.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 161

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 165

### CORRELACIÓN ENTRE DOS METODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA FERRITINA EN EL ANALIZADOR COBAS DIAGNOSTIC (ROCHE)

*Autor/a/s:* Marcos José Rodríguez del Rosario, Dolores Rodríguez Martel, María Magnolia Molina Gil, eoca Quintana, Iluminada Ramos Nuez, María del Carmen Santana Zerpa, Elisa del Carmen montesdeoca Quintana.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL DE GRAN CANARIA DOCTOR NEGRN.

*Provincia:* Las Palmas

*Correo electrónico del primer firmante:* mrodrosp@hotmail.com

#### Introducción:

La ferritina es una macromolécula cuyo peso molecular es de 440 kD, su determinación constituye un método eficaz para examinar la situación metabólica del hierro.

Niveles reducidos de ésta, se acompañan de una anemia hipocrómica y microcítica, la cual se relaciona con un déficit de hierro. Mientras que un nivel alto, indica una sobrecarga férrica en el organismo. También pueden encontrarse valores elevados en los siguientes tumores: leucemia aguda, linfoma de Hodgkin, carcinoma pulmonar, de colon, hepático y prostático, e infecciones ya que es un reactante de fase aguda.

#### Objetivo:

Comprobar si existe una buena correlación entre dos métodos de determinación de ferritina en el COBAS (ROCHE DIAGNOSTIC) para poder implantarla en nuestro laboratorio.

#### Material y Método:

Se realiza la determinación de la ferritina con 131 muestras de suero de pacientes de atención primaria del área norte de la isla de Gran Canaria.

Las dos técnicas utilizadas para medir los niveles de ferritina fueron: un método de inmunoturbimetría en el módulo C711 y un método de electroquimioluminiscencia en el módulo C601 ambos métodos del analizador COBAS (Roche Diagnostic).

#### Resultados:

La media en el C601 (80.01ng/ml) y C711 (84.91 ng/ml) para un n=131.

Realizamos la correlación entre las 2 metodologías por niveles.

Niveles de ferritina (ng/ml)	Ecuación de la recta	R2
< de 10	$Y = -0.927 + 0.844x$	0.88
>10-25	$Y = -0.517 + 0.876X$	0.918
> 25	$Y = -7.434 + 1.006X$	0.984



#### Conclusión:

La correlación de la determinación de ferritina por las dos metodologías es adecuada ( $r^2 = 0,993$ ), siendo peor en niveles de ferritina < 10 ng/ml ( $r^2 = 0,88$ ); probablemente, debido a que la metodología por el método C601, es más sensible que el anterior C711. Por lo tanto, concluimos que la C601, puede sustituir a C711.

### RESPUESTA DEL GLUCAGON PLASMÁTICO Y SOBRECARGA ORAL DE GLUCOSA TRAS LA CIRUGÍA DE DERIVACIÓN GASTRO-YEYUNAL (DGY) EN UN MODELO DE RATA DIABÉTICA NO OBESA (GOTO-KAKIZAKI)

*Autor/a/s:* PRIMO MARTIN DAVID, CONDE VICENTE ROSA.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL RIO HORTEGA

*Provincia:* VALLADOLID

*Correo electrónico del primer firmante:* bsdavid\_primo@hotmail.com

#### RESUMEN:

RESPUESTA DEL GLUCAGON PLASMÁTICO Y SOBRECARGA ORAL DE GLUCOSA TRAS LA CIRUGÍA DE DERIVACIÓN GASTRO-YEYUNAL (DGY) EN UN MODELO DE RATA DIABÉTICA NO OBESA (GOTO-KAKIZAKI)

#### Introducción:

Uno de los hallazgos más sorprendentes de la cirugía bariátrica es la resolución de la mayoría de las enfermedades que se encuentran asociadas a la obesidad, especialmente la diabetes tipo 2, con la DGY nos da una resolución rápida de la diabetes y podría prevenir su desarrollo.

El glucagón, hormona peptídica sintetizada y secretada por las células  $\alpha$  del páncreas endocrino. Estas células representan el 20-25 % de un islote normal mientras que en ratas diabéticas pueden alcanzar más del 70 %. La secreción de glucagón está regulada por nutrientes y hormonas, siendo la glucosa y la insulina los más importantes, siendo su efecto final hiperglucemiante y contra-insular.

Nuestro objetivo fue estudiar en ratas goto-kakizaki, modelo de rata diabética tipo 2 no obesa, el efecto de la derivación gastroyeyunal sobre la glucosa y los niveles de glucagón en sangre.

#### Material y Métodos.

Se estudiaron 2 grupos de ratas Goto-Kakizaki: Grupo operado (DGY; n = 9 ratas) frente a Grupo Control (n = 15 ratas). Se determinó el glucagón (pg/mL) en suero obtenido a los 20 minutos tras sobrecarga oral de glucosa mediante EIA (Yanaihara Institute Inc, Japón), antes de la operación y a las 1 y 8 semanas de la misma. La glucosa se determinó basalmente y a los 120 minutos de la sobrecarga (mediante extracción de la vena lateral de la cola de la rata), calculándose el ratio [concentración a los 120 minutos] / [concentración basal].

#### Resultados:

No hubo diferencias en el peso basal de las ratas entre ambos grupos (control: 333,66 ± 63,3 g; DGY: 345,44 ± 87,2 g; NS), ni tampoco en las semanas 1 y 8. Los resultados de la curva de glucosa en DGY y controles se recogen en la Tabla 2. El ratio de glucosa no presentó diferencias preoperatorias entre ambos grupos, pero fue estadísticamente superior en el grupo control tanto a la 1ª semana (control, 4,2 ± 0,97; DGY, 3,14 ± 0,96; p = 0,019) como a la 8ª semana (control, 4,6 ± 0,87; DGY, 3,19 ± 0,53; p = 0,001).

El glucagón basal (preoperatorio) no mostró diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Tabla 1). Sin embargo, a la semana de la operación la concentración en el grupo operado había descendido en relación al grupo control (tendencia no significativa) y continuó descendiendo a las 8 semanas (123,18 ± 50,9 pg/mL versus 206,99 ± 104,64 pg/mL; p = 0,025).

Glucagón	Basal	1 semana	8 semana	p (basal-1 semana)	p (basal-8 semana)
Control	181,7587	236,2387	206,9973	ns	Ns
DGY	166,0733	143,1752	123,1811	ns	Ns
p (control-DGY)	ns	0,064*	0,025		

	Glucosa	Basal	1 semana	8 semana
0 min	Control	131,3	109	106,2
	DGY	180,4	153,1	157,1
120 min	Control	472,6	441,8	480,6
	DGY	473,4	463,3	488,7
Ratio 120/0	Control	4,2	4,2	4,6
	DGY	3	3,1	3,2

#### Conclusiones:

Se pone en evidencia que los niveles de glucagón en ratas diabéticas operadas con DGY descienden considerablemente a las 8 semanas después de la intervención quirúrgica frente a las ratas control no operadas. Este descenso (junto al probable aumento de la insulina) se traduce en una menor crecimiento de la glucemia (ratio 120-basal) tras la sobrecarga oral de Glucosa.

**PARATHORMONA INTACTA RÁPIDA**

*Autor/a/s:* Ana Cristina Ruiz Modrego, Yolanda Lucea Parejo, M<sup>a</sup> José Melgarejo Pina, Natalia Antomil Antuña.

*Centro de trabajo:* H.C.U. Miguel Servet

*Provincia:* Zaragoza

*Correo electrónico del primer firmante:* anacris574@gmail.com

**BREVE INTRODUCCIÓN**

Antes del uso de la PTH rápida intraoperatoria el éxito de la cirugía dependía de la realización de una disección completa del cuello y la inspección metódica de las 4 glándulas paratiroides.

Por ello, durante mucho tiempo se ha buscado un método rápido que indique la curación fisiológica.

**OBJETIVO:**

Determinar la PTH intraoperatoria durante la paratiroidectomía por un hiperparatiroidismo primario. Se analiza si hay una reducción mínima del 50% del valor de la PTH desde antes de la incisión y después de la resección del tejido paratiroideo.

**MATERIAL:**

- Aparato UNICEF Dxl 800 de Beckman Coulter.
- Envases de reactivos Access Intact PTH.
- Calibradores y controles de calidad de Access Intact PTH.
- Diluyente de muestra A Access.
- Sustrato Access Substrate y solución tamponada de lavado.
- Muestra de suero basal antes de la incisión y muestras de suero a los 5 y 10 minutos de la resección del tejido paratiroideo.

**MÉTODO:**

Es un ensayo inmunoenzimático de dos posiciones, es decir, método "sándwich", donde la muestra junto con los anticuerpos monoclonales anti-PTH conjugado con ciertas sustancias se unen en la fase sólida donde el sustrato quimioluminiscente Lumi-Phos\* 530 mide la luz generada que es directamente proporcional a la concentración de PTH de la muestra.

**CONCLUSIÓN:**

La monitorización intraoperatoria PTH representa un inmejorable ejemplo de cómo la rápida entrega de unos resultados analíticos puede proveer información crítica a la hora de decidir el óptimo tratamiento quirúrgico del paciente.

Se estima una disminución del tiempo de la intervención y de la estancia en el hospital, lo que repercute favorablemente en los costes globales del proceso, en comparación con la técnica quirúrgica clásica.

Como otras pruebas realizadas a la cabecera del paciente dan al profesional del laboratorio la oportunidad de involucrarse más directamente en el cuidado del mismo.

**UTILIDAD DE LOS PARAMETROS DE LABORATORIO PARA LA VALORACIÓN DEL DÉFICIT DE HIERRO**

*Autor/a/s:* LORENA RODRÍGUEZ LORENZO; EVA FLORINDA ORVIZ IGLESIAS; M<sup>a</sup> BELÉN VELASCO ROZADA; LUIS ANGEL ALVAREZ SANCHEZ.

*Centro de trabajo:* LABORATORIO A.C SILICOSIS- HUCA.

*Provincia:* P. ASTURIAS

*Correo electrónico del primer firmante:* loreastur@hotmail.com

**Introducción:**

El hierro es un nutriente esencial para la vida, ya que es imprescindible para gran cantidad de procesos biológicos muy importantes: el transporte de oxígeno a los tejidos, la síntesis de DNA, el transporte de electrones y producción oxidativa de energía; además forma parte de numerosas enzimas que serían metabólicamente inactivas sin su presencia.

La distribución del hierro en el organismo se hace en tres compartimentos: uno funcional, formado por la hemoglobina, la mioglobina y las enzimas que actúan como cofactores; otro de transporte formado por la transferrina y un compartimento de depósito formado por la ferritina y la hemosiderina que constituyen las reservas de hierro del organismo. El intercambio de hierro entre los distintos compartimentos y de estos con el medio externo se realiza mediante los procesos de absorción, transporte, depósito y eliminación.

La ferritina es una proteína que se encuentra dentro de las células, almacena hierro y circula por el organismo a través del torrente sanguíneo. Se encuentra principalmente en el hígado,

bazo, mucosa intestinal y médula ósea. La determinación de ferritina sérica es un buen indicador de las reservas de hierro disponibles.

**Objetivos:**

Estudiar el comportamiento de los parámetros de laboratorio relacionados con el metabolismo del hierro en pacientes con ferritina baja.

**MATERIALES Y MÉTODOS:**

se recogieron al azar 121 pacientes que presentaban una ferritina menor de 10 ng/ml. Se comprobó cómo se hallaban en estos pacientes el resto de los parámetros relacionados con el metabolismo del hierro.

En sangre total (edta) se determina: la hemoglobina y el VCM, en un analizador coulter LH-750 por el método colorimétrico y de impedancia. En suero se determinan: Hierro, por un método colorimétrico en un analizador Cobas 711 (reactivo, control y calibrador de Roche); ferritina por el método CMIA (inmunoensayo quimioluminiscente de micropartículas) en un analizador Architect i2000 (reactivo, control y calibrador de Abbott).

**Resultados:**

de los 121 pacientes: 114 son mujeres y 7 hombres.

Anemias (< 12g/dl mujeres y < 13.5 g/dl en hombre): 60/ 121 (49,6%)

Ferropenias (< 39 µg/dl mujeres y < 59 µg/dl en hombre): 55 / 121 (45,4%)

Microcitosis (menos de 82 fl): 63 / 121 (52 %)

Anemia + ferropenia+ microcitosis: 35 / 121 (28,9%)

Pacientes con solo hipoferritinemia: 27 / 121 (22,3%)

No presentamos resultados de saturación de transferrina por no tener suficientes datos en nuestro laboratorio.

**Conclusiones:**

Las sensibilidades de los distintos parámetros de laboratorio que hacen sospechar una situación de déficit de hierro (hemoglobina, hierro bajo en sangre y microcitosis) son muy parecidas y están alrededor de un 45- 52 %.

Llama la atención que casi una cuarta parte de los pacientes con ferritina baja tengan normales el resto de los componentes que se alteran en situaciones de déficit de hierro, lo que nos indica la elevada sensibilidad de la ferritina para el estudio del déficit de hierro.

Para conocer el estado de déficit de hierro de un paciente hay que estudiar varios parámetros de laboratorio y con todos ellos establecer un diagnóstico.

**EVALUACIÓN DE HEMOGLOBINA GLICADA (HB A1C) EN DOS EQUIPOS DE HPLC**

*Autor/a/s:* M<sup>a</sup> Pilar Belenguer García, Alejandra Sancho García, Olga Lucas Zabala y Mercedes Tejero Antoñanzas

*Centro de trabajo:* CME: Grande Covian (sector ZGZ I)

*Provincia:* Zaragoza

*Correo electrónico del primer firmante:* pilarb38@gmail.com

**Introducción:**

Nuestro Laboratorio esta inmerso en un Programa de Acreditación conforme a la Norma UNE-EN ISO 15189:2007. La Norma, en lo referente a equipos a utilizar en el Laboratorio, señala específicamente que "El equipo debe haber demostrado (durante su instalación y utilización ordinaria) que es capaz de alcanzar las prestaciones precisas y debe cumplir las especificaciones pertinentes a los análisis correspondientes".

**Objetivo:**

El objeto de este trabajo es verificar que la determinación de Hemoglobina Glicada utilizando el equipo Tosch G8 de Bioscience mantiene como mínimo las mismas especificaciones de calidad que disponíamos en el Equipo HA 81600 AdamsTM A1c de Menarini. Al mismo tiempo contrastar si hubiese alguna ventaja en el manejo o claridad en los informes.

Ambos utilizan el método de HPLC por intercambio iónico, método de referencia para esta determinación.

**Material y Métodos:**

El estudio fue realizado durante el mes de Diciembre de 2011, con una primera fase de entrenamiento en el manejo del equipo Tosch G8 y posterior realización de trabajo y evaluación de resultados conforme a criterios y unidades DGCC.

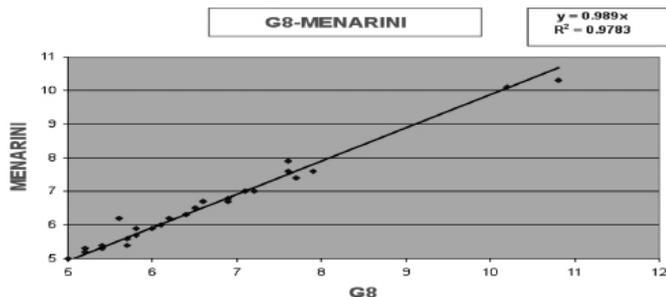
Ambos analizadores (Toch G8 y HA 81600) fueron calibrados diariamente y mientras duró el estudio con sus propios calibradores, comprobándose en ambos la repetibilidad de los controles. La reproducibilidad se verificó procesando dos niveles de control en cada equipo.

Se procesaron 30 muestras de 30 pacientes distintos, en ambos analizadores, obteniéndose un R2=0.9783 para una recta de regresión y= 0.989x

Se obtuvieron dos pool de muestras, que se procesaron 25 alícuotas cada día, los días 14, 15, 16 y 21, 22, 23 de Diciembre, obteniéndose las medias, Ds y CV que se indican. Los pools se mantuvieron en todo momento, en nevera refrigerada entre +2°C y + 8°C, utilizándose únicamente las alícuotas.

### Resultados:

Correlación entre los equipos para la misma técnica.



Estabilidad del analito en la misma muestra (Pool).

Fechas		14/12	15/12	16/12	21/12	22/12	23/12
Nivel 1	Media	4,6190	4,6192	4,6285	4,6450	4,63820	4,60580
	Ds	0,0294	0,0282	0,0305	0,02500	0,03000	0,03620
	CV %	0,6370	0,6120	0,6610	0,53870	0,64890	0,78670
Nivel 2	Media	4,8100	4,8225	4,8261	4,86600	4,86170	4,81700
	Ds	0,0240	0,0270	0,0202	0,02620	0,02560	0,01640
	CV %	0,4992	0,5612	0,4188	0,53920	0,52860	0,34240

### Conclusiones:

- 1º.- La sencillez de manejo y de mantenimiento, tanto del Tosch G8 como del HA 81600, y la posibilidad de alimentación batch, los hace idóneos para un volumen medio de trabajo diario.
- 2º.- La determinación de Hemoglobina Glicada en los equipos estudiados, presentan datos homogéneos y parámetros estadísticos no significativamente distintos.
- 3º.- La Hemoglobina Glicada se mantiene estable durante al menos nueve días, si esta se conserva entre +2 °C y +8°C
- 4º.- Se evidencia un menor tiempo de procesamiento por muestra, empleado por el Tosch G8 (< a 2 minutos) frente a los 2.49 minutos de HA 81600.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 176

### ESTABILIDAD DE PARÁMETROS BIOQUÍMICOS EN DISTINTAS CONDICIONES

Autor/a/s: GENOVEVA ALONSO POZA, M<sup>a</sup> NIEVES JUEZ TUR, M<sup>a</sup> CONCEPCIÓN CALVO NOGUERAS, M<sup>a</sup> ANGELES GIL ALONSO, MERCEDES TEJERO ANTOÑANZAS

Centro de trabajo: CME Grande Covián. SECTOR I

Provincia: Zaragoza

Correo electrónico del primer firmante: evaalonsopoza@yahoo.es

### INTRODUCCIÓN:

Actualmente en nuestro Sistema de Gestión de Calidad (Norma UNE-EN-ISO 15189), se contempla la posibilidad de ampliación de pruebas por parte del facultativo peticionario. Asimismo la Unidad de Calidad puede detectar errores en la programación de la petición que obligue a realizar determinaciones con posterioridad. En nuestro laboratorio los sueros procesados son conservados durante 8 días en nevera de 4 a 8 ° C, tapados con parafilm o con tapón de caucho.

### OBJETIVO:

El objetivo del presente estudio es valorar la estabilidad en suero de 33 analitos en tubo primario, en las condiciones reales de conservación de nuestro laboratorio, y compararlas con otros supuestos, para una posible ampliación de pruebas y garantizar la fiabilidad de los resultados.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Tras un muestreo aleatorio se estudiaron 105 pacientes de ambos sexos, con edades comprendidas entre 2 y 89 años desde marzo de 2010 hasta febrero de 2011, procesándose los sueros en un Cobas C-711 de Roche Diagnostics. Las muestras fueron obtenidas en tubos primarios BD Plymouth, Vacutainer de 3'5 mL con activador SST II Advance, con separador y acelerador de la coagulación, siendo centrifugadas a 3000 rpm durante 10 min.

Las muestras de los pacientes fueron distribuidas en cinco grupos, en función de las condiciones de conservación a estudiar: En nevera (4- 8 ° C) tapados con tapón de plástico

ref. 005050012; en nevera tapados con Parafilm M; en nevera destapado; a temperatura ambiente (22°C) con tapón de plástico y a Tº ambiente tapados con Parafilm M. Se determinó la concentración de los analitos en estudio durante 9 días consecutivos.

Los analitos a estudiar fueron: ACP, ALP, ALT, Amilasa, AST, BIL D, BIL T, Ca, CHE, CHOL, CK, CK-MB, CL, CREAT, FERRIT, GGT, GLU, HDL-C, Fe, K, LDH, LDL-C, Lipasa, Mg, Na, ACP-NPP, PHOS, TP, TRANSF, TRIGL, UA, UIBC Y UREA.

La inestabilidad máxima permisible para nuestro estudio, es la especificada por la SEQC como imprecisión mensual (CV%), aceptándose aquellos resultados cuyo cumplimiento es común para el 95% de los pacientes en cada uno de los casos

La prueba estadística utilizada fue el coeficiente de correlación de Pearson (r), aceptándose un  $r > 0.9$ .

### RESULTADOS:

#### ESTABILIDAD DE LAS MUESTRAS EN LAS CONDICIONES ESTUDIADAS

	NEVERA	NEVERA	NEVERA	Tº AMBIENTE	Tº AMBIENTE
ANALITO	TAPÓN	PARAFILM	DESTAPADO	TAPÓN	PARAFILM
ACP	1 días	1 días	1 días	1 días	1 días
ALP	9 días	9 días	5 días	9 días	9 días
ALT	9 días	9 días	9 días	9 días	9 días
AMIL	9 días	9 días	5 días	9 días	9 días
AST	9 días	9 días	5 días	9 días	9 días
BIL D	9 días	9 días	9 días	1 días	1 días
BIL T	9 días	8 días	9 días	4 días	4 días
CA	9 días	5 días	3 días	2 días	1 días
CHE	9 días	9 días	4 días	4 días	9 días
CHOL	9 días	5 días	3 días	9 días	9 días
CK	9 días	9 días	9 días	9 días	9 días
CK-MB	2 días	2 días	2 días	1 días	1 días
CL	9 días	5 días	1 días	5 días	3 días
CREAT	9 días	9 días	5 días	9 días	9 días
FERRIT	9 días	9 días	3 días	9 días	9 días
GGT	9 días	9 días	5 días	9 días	9 días
GLUCOSA	9 días	9 días	2 días	9 días	9 días
HDL	9 días	9 días	5 días	9 días	9 días
IRON	9 días	9 días	4 días	9 días	9 días
K	3 días	3 días	1 días	3 días	3 días
LDH	9 días	5 días	5 días	9 días	9 días
LDL-C	9 días	9 días	4 días	5 días	5 días
LIP	9 días	9 días	9 días	9 días	9 días
MG	9 días	9 días	5 días	9 días	9 días
NA	9 días	3 días	1 días	1 días	1 días
NPP	2 días	1 días	1 días	1 días	1 días
PHOS	9 días	9 días	5 días	4 días	3 días
TP	9 días	9 días	3 días	9 días	9 días
TRANSF	9 días	9 días	3 días	9 días	9 días
TRIGL	9 días	9 días	5 días	9 días	9 días
UA	9 días	9 días	5 días	9 días	9 días
UIBC	9 días	9 días	4 días	9 días	9 días
UREA	9 días	9 días	5 días	9 días	9 días

### Conclusiones:

- 1º.- La mejor condición de conservación de las muestras es en nevera y tapadas con tapón de plástico, y la peor es en nevera y destapadas.
- 2º.- Es fundamental conservar las muestras tapadas con Parafilm o con tapón, por el elevado grado de concentración que se observa, por lo cual es recomendable no reprocesar ninguno de los parámetros estudiados si están destapadas, salvo los del punto 3º de estas conclusiones.
- 3º.- La mayor estabilidad se observa durante los nueve días, en los cinco supuestos estudiados para ALT, CK y LIP.

4º.- Los parámetros ALP, AMIL, AST, CREA, FERRIT, GGT, GLUCOSA, HDL, FE, LDH, MG, TP, TRANSF, TRIGLI, UA, UIBC y UREA son estables durante los nueve días, salvo que se conserven en nevera destapado.

5º.- A 1ª ambiente los parámetros menos estables son: BIL D, BIL T, Ca, Cl, LDL-C, Na y PHOS.

6º.- Independientemente del tipo de conservación, los analitos más inestables son: Na, K, Cl, CK-MB, ACP y ACP-NPP.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 179**

## **ESTUDIO RETROSPECTIVO DE LAS INTOXICACIONES POR PARACETAMOL EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS**

*Autor/a/s:* de la Fuente Huerga, María del Carmen y García Palomo, Antonia María

*Centro de trabajo:* Hospital General Universitario de Ciudad Real

*Provincia:* Ciudad Real

*Correo electrónico del primer firmante:* m.c.fuente@hotmail.com

### **Introducción:**

el Paracetamol o Acetaminofeno es el analgésico más vendido en el mundo, y el fármaco más usado en Pediatría, por ello es de los productos más comúnmente implicado en intoxicaciones, ya sean intencionales o no. Se encuentra disponible en varios formatos, es contenido en más de 100 productos.

La intoxicación en adultos es por una ingestión intencionada en grandes dosis con fines suicidas y en los niños suele ser una ingestión accidental por un cálculo erróneo de la dosis, excesiva medicación por parte de los padres, uso de fórmulas de adultos para niños, errores en el reconocimiento de las distintas formas de presentación de l fármaco (solución ≠ gotas) y coingestión de grandes dosis, no intencionada, con fármacos opiáceos como la codeína.

### **Objetivo:**

Analizar la demanda de peticiones de paracetamol en suero del Laboratorio de Urgencias desde la implantación de esta técnica el 5 de agosto del 2010 hasta el 31 de diciembre del 2011.

### **Material y Métodos:**

Las determinaciones de paracetamol en los Synchron Lx 725i mediante el método de inmunoinhibición turbidimétrico potenciado con partículas.

Acetaminofén (muestra) + PBD + Ab → PBD – Ab(agregados) + acetaminofén (muestra) – Ab

A partir del programa informático SIGLO se obtuvo una base de datos de todas las peticiones de paracetamol realizadas desde el 2010 hasta 2011.

### **Resultados:**

El total de peticiones realizadas en nuestro Laboratorio de Urgencias fue de 69 . La media fue de 4,05 peticiones/mes. El número total de pacientes atendidos fue de 36, con una media de 1.9 determinaciones/paciente. De éstos 26 fueron mujeres (72,2%) y 10 fueron hombres (27,8%)

Las edades están comprometidas entre 2 años y 83 años, siendo el 75% de los pacientes atendidos de edad inferior a 25 años.

De los 36 paciente atendidos, solo 3 de ellos tuvieron criterios de intoxicación (según el nomograma de Rumack-Matthews) y necesitaron tratamiento específico con NAC (N-acetilcisteína). La concentración más alta detectada fue de 136 µg/ml

### **Conclusión:**

Las concentraciones séricas de paracetamol de >150 µg/ml en adultos y de >200 µg/ml en niños se consideran que pueden producir daño hepático.

La observación de la concentración de paracetamol es de gran ayuda al clínico para poder evaluar el grado de envenenamiento y a determinar los pasos de la desintoxicación.

El 90% de los casos de intoxicación son por autolisis y un 10% correspondió a error en el tratamiento.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 183**

## **NUEVOS VALORES DE REFERENCIA EN EL ANALISIS DE SEMEN**

*Autor/a/s:* García Montes, Encarnación; Montilla Rodríguez, María Del Mar; Galera Martínez, María Del Mar; Castillo Gutiérrez Antonia Inmaculada; Valdivia López, María Luisa; Real Vargas, Isabel María.

*Centro de trabajo:* Agencia Pública Empresarial Sanitaria HOSPITAL DE PONIENTE

*Provincia:* Almería

*Correo electrónico del primer firmante:* encarna.garcia@ephpo.es

### **Introducción:**

La realización de un seminograma es una de las pruebas más importantes para el diagnóstico de esterilidad masculina. En Abril de 2010 se publicó la 5ª Edición del manual de la OMS para el estudio y procesamiento del semen que introduce, entre otras novedades, el cambio de los valores de referencia establecidos por nuevos valores inferiores límite (LRL). Las mayores diferencias se dan en los parámetros de morfología, concentración espermática por mL., movilidad y volumen seminal.

### **Objetivos:**

Analizar el impacto de los nuevos valores del manual OMS (5ª Ed.) en los resultados obtenidos en los seminogramas realizados en nuestro laboratorio en el período 2.005 a 2.009.

### **Material y Métodos:**

Durante estos años se realizaron en nuestro laboratorio 1.313 seminogramas, correspondientes a pacientes de edades comprendidas entre los 13 y los 74 años, con una media de edad de 33,1 años. Las muestras se obtienen por masturbación tras un período de abstinencia de 2 a 7 días. El análisis básico del semen se realiza siguiendo las normas del manual de la OMS, valorando los siguientes parámetros: volumen, pH, viscosidad, recuento de espermatozoides, movilidad y morfología. ≤

### **Resultados:**

Del total de muestras analizadas, 45 (3,6%) presentaron un pH anormal (pH < 7,2) y 257 (19,6%) una viscosidad anormal. Aplicando los valores de referencia del manual de la OMS (4ª Ed.), se consideraron hipospermias un total de 320 muestras (24,5%) al presentar un volumen inferior a 2 ml, normozoospermias 895 (67,9%); azoospermias 89 (6,8%); criptozoospermias 10 (0,8%); oligozoospermias 306 (23,3%); polizoospermias 13 (0,9%); astenozoospermias 731 (55,2%) y teratozoospermias 398 muestras (31,4%). Según el manual de la OMS 5ª Ed., se clasificarían como hipospermias un total de 227 (17,3%); normozoospermias 964 (73,4%); azoospermias 89 (6,8%); criptozoospermias 10 (0,8%); oligozoospermias 237 (18,1%); polizoospermias 13 (0,9%); astenozoospermias 517 (39,4%) y teratozoospermias 33 muestras (2,5%).

### **Conclusiones:**

Al aplicar los nuevos valores inferiores límite de referencia, disminuyen de forma considerable las alteraciones espermáticas encontradas, principalmente teratozoospermia, que se reduce en un 28,9%, astenozoospermia en un 15,8%, hipospermia en un 7,2% y oligozoospermia en un 5,2%. La alteración espermática más frecuente con ambos valores es la astenozoospermia, aunque seguida de la oligozoospermia (OMS 5ª Ed.) y de la teratozoospermia (OMS 4ª Ed.).

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 186**

## **APLICACIÓN DE LA UNE-EN ISO 15189(ACREDITACIÓN DE LABORATORIOS CLÍNICOS) EN EL ÁREA PREANALÍTICA DE CATLAB**

*Autor/a/s:* Paquita Pariente Jiménez, Paquita Ortiz Requena, Olga Ortega Aixas, Paquita Navajas Rojano, Teresa Crespo Puig, Verónica Camacho Guillén

*Centro de trabajo:* Catlab

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* vcamacho@catlab.cat

### **Introducción y Objetivos:**

Catlab (Centre Analítiques Terrassa) obtuvo la Certificación según la Norma UNE-EN ISO 9001:2008, en junio del año 2010.

En el año 2011 se empezó a trabajar para obtener la Acreditación según la Norma UNE-EN ISO 15189 para el área de Preanalítica y 119 magnitudes del área de Bioquímica automatizada de suero.

El objetivo de este estudio es valorar el trabajo realizado en el área Preanalítica, para la obtención del certificado de Acreditación y las mejoras obtenidas.

### **Material y Métodos**

El alcance de la Acreditación solicitada para el área de preanalítica en Catlab, cubre la toma de muestras de sangre, manipulación y gestión de muestras de sangre y orina.

En nuestro caso los centros de extracción no dependen del laboratorio, con lo cual se hicieron grupos de trabajo conjuntos con el personal de extracciones y el personal de preanalítica, para la elaboración de los distintos protocolos de trabajo de los centros de extracciones.

En la elaboración de estos protocolos se tuvieron en cuenta los siguientes puntos: Petición analítica, preparación de los pacientes, procedimiento de extracción, Conservación, preparación y transporte de la muestra, recepción de las muestras en Catlab, tratamiento de las incidencias preanalíticas y formación del personal.

El personal de enfermería y técnicos del laboratorio, elaboraron también un documento para la toma de sangre venosa y otro con una descripción de los requisitos de llegada de muestras. Se actualizaron todas las instrucciones de recogida de muestras en el catálogo.

Se ampliaron algunos registros ya existentes: Tanto en el caso de las pruebas añadidas como los tubos que llegan sin etiquetar, se añadió el campo del centro al que pertenecen, para poder contabilizarlo como indicadores de calidad.

Se cambió el programa de control de temperatura de transporte, por otro programa que además de la Temperatura nos controla también el tiempo (T&T de BD)-

#### Resultados:

Catlab pasó satisfactoriamente la Auditoría externa de Acreditación en Febrero del 2012, sin ninguna No Conformidad.

A partir de este año, Catlab además del informe de incidencias preanalíticas diarias y mensuales, añadiremos también el informe de Temperatura y tiempo de transporte.

En las incidencias diarias, constará también el número de tubos sin etiquetar de cada centro.

#### Conclusiones:

Creemos que disponer de la acreditación, lo que implica cumplir los requisitos exigidos por la Norma UNE-EN ISO 15189, supone para la fase Preanalítica uniformizar los procesos de recogida de muestras y un reconocimiento de la calidad, en unos circuitos en los que intervienen muchas personas y que son difíciles de estandarizar.

Además a partir de ahora los centros de extracción recibirán los informes de incidencias preanalíticas diarios y mensuales con más datos, y los nuevos indicadores añadidos permitirán un seguimiento más exhaustivo de los procesos preanalíticos.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 187**

### IMPLEMENTACIÓN DE UN SISTEMA DE CONTROL DE TEMPERATURA Y TIEMPO DE TRANSPORTE.

*Autor/a/s:* Paquita Ortiz Requena, Paquita Pariente Jiménez, Olga Ortega Aixas, Paquita Navajas Rojano, Xavier Martínez Asensio

*Centro de trabajo:* Catlab

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* vcamacho@catlab.cat

#### Introducción:

En noviembre del 2011, Catlab (Centre Analítiques Terrassa) solicitó la acreditación UNE-EN ISO 15189 para el área de Preanalítica y 119 magnitudes del área de Bioquímica automatizada de suero y orina.

Para poder cumplir con los requisitos de manipulación y gestión de muestras de sangre y orina, en el área de Recepción de Muestras de Catlab se instauró un programa homologado de medición de tiempo y temperatura de transporte de muestras T&T (Beckton and Dickinson).

#### Objetivos:

Obtener un registro diario de temperaturas y tiempo de transporte de las muestras biológicas, de las distintas rutas establecidas por Catlab con los centros de extracción. (10 rutas de Asistencia primaria y 2 Hospitalarias)

Implementar acciones de mejora en el caso de que se incumplan los requisitos establecidos.

#### Material y Métodos:

Neveras de transporte de muestras que cumplen la norma UNE-3373 (sustancias biológicas categoría B), Software T&T instalado en un PC en el área de Recepción de Muestras, System Manager: dispositivo con pantalla que sirve para recibir y almacenar la información del TempStick, Mission: dispositivo sin pantalla para configurar el TempStick en el centro de extracción,

TempStick: memoria que realiza las lecturas de temperatura programadas cada 3' y tiempo de transporte. Se activa en el centro de extracción a través del Mission.

En Recepción de muestras, se descarga diariamente la información de los TempStick en el System Manager, esta información se guarda en el Software T&T, para posteriormente poder exportar los datos con un programa propio.

El intervalo de temperatura establecido fue de 15° a 25°C y el tiempo máximo de transporte al laboratorio 2h.

Para la puesta en marcha del programa, se realizaron visitas a los centros de extracción por parte del personal técnico de Catlab.

#### Resultados:

Los datos obtenidos corresponden al periodo de noviembre del 2011 a enero 2012.

Se han realizado 678 lecturas, de ellas un 93,66% han sido correctas y un 6,34% han tenido algún tipo de incidencia (0.44% T<sup>a</sup> > al intervalo, 1.32% T<sup>a</sup> < al intervalo, 1.91% no configuración del TempStik y 2.65% tiempo transporte > a 2h)

Las incidencias se informan diariamente a los centros via e-mail y mensualmente se envía un informe, con todos los registros.

#### Conclusiones:

Creemos que es un buen sistema para la trazabilidad de la temperatura y tiempo de transporte de las muestras.

Las incidencias se trabajan conjuntamente entre el personal de Catlab y las personas responsables de cada uno de los centros de extracción.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 199**

### ERRORES DURANTE LA FASE PRE-ANALITICA EN EL AREA DE SALUD DE MELILLA

*Autor/a/s:* Rodríguez Camacho, María Luisa. Chaparro Medina, Inés. Gil Ginés, Sebastián.

*Centro de trabajo:* Hospital Comarcal de Melilla

*Provincia:* Melilla

*Correo electrónico del primer firmante:* (luisazuheros@hotmail.com)

#### Introducción.

La fase pre-analítica comprende desde el momento en el que se produce la petición de un análisis hasta la ejecución del mismo. Abarca una etapa extra laboratorio hasta su recepción en el mismo. La mayoría de los errores del Laboratorio ocurren durante la fase pre-analítica y constituyen un 50-70% de los errores totales.

Por otro lado, no existen estándares que definan la calidad durante esta fase, siendo necesario que cada laboratorio sea el encargado de fijar unos indicadores que le permitan medir, evaluar y tomar decisiones de mejora.

#### Objetivos:

Evaluar las incidencias pre-analíticas en las peticiones de Atención Primaria y las Hospitalarias del Área de Salud de Melilla durante un periodo de 8 meses.

#### Material y métodos.

Se han registrado las incidencias de las muestras de suero, orina y hemograma, clasificándolas en: muestras hemolizadas, coaguladas, insuficientes o no recibidas. La recogida de los datos se realizó mediante el sistema informático Modulab Gold (Izasa) y exportación y tratamiento posterior en Excel.

#### Resultados:

En la tabla 1 se exponen el total de contenedores recibidos y las incidencias totales en función del origen de la muestra. En la tabla 2 se clasifica el tipo de incidencia por contenedor.

Tabla 1. Incidencias en las muestras recibidas.

	HOSPITAL	ATENCION PRIMARIA	TOTAL
TOTAL DE MUESTRAS	179470	67192	246662
INCIDENCIAS	1146	562	1708

Tabla 2. Clasificación de las incidencias.

MUESTRA	PRIMARIA	HOSPITAL	MUESTRA	PRIMARIA	HOSPITAL
<b>BIOQUIMICA</b>	<b>73</b>	<b>164</b>	<b>ORINA</b>	<b>361</b>	<b>782</b>
Muestra no recibida	40	28	Muestra no recibida	351	771
Muestra hemolizada	27	116	Muestra accidentada	3	1
Contenedor inadecuado	1	1	Contenedor inadecuado	6	9
Muestra insuficiente	5	19	Muestra insuficiente	1	1
<b>HEMOGRAMA</b>	<b>118</b>	<b>190</b>	<b>ORINA 24 HORAS</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
Muestra no recibida	106	161	Contenedor inadecuado	1	0
Muestra coagulada	12	29	Muestra no recibida	8	10

#### Conclusiones:

- 1.-El registro de incidencias es una herramienta clave para la gestión de la calidad en la fase pre-analítica.
- 2.-La evaluación de estos datos nos permite una base para mejorar futuras actuaciones con la finalidad de reducir el número de incidencias.

**EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS DE DIGOXINA EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS**

*Autor/a/s:* LOPEZ SANCHEZ, ISABEL, RODRIGUEZ CARREÑO, MIREIA

*Centro de trabajo:* URGENICAS HMT CATLAB

*Provincia:* BARCELONA

*Correo electrónico del primer firmante:* brujilla-5@hotmail.com

**INTRODUCCIÓN:**

La digoxina es un fármaco glucósido cardiotónico, que actúa mejorando la contractibilidad del músculo cardíaco y disminuye la velocidad de respuesta ventricular. Su mecanismo de acción es por inhibición de la bomba que intercambia iones sodio y potasio en la membrana celular con consumo de ATP. Se utiliza en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca congestiva y en el control de las arritmias supraventriculares.

**OBJETIVO:**

Conocer el número de resultados de digoxina que están por debajo de los valores de referencia establecidos para la misma y analizar sus posibles causas para implementar un plan de actuación.

**Material y Métodos:**

Este fármaco se analiza en un Cobas 6000 (Roche).

Los controles que se utilizan son: Lyphocheck Immunoassay Plus Control, niveles 1 y 2 (Bio-Rad).

El método analítico: electroquimioluminiscencia.

Las muestras son procedentes de enfermos de urgencias, ingresados en el hospital y de atención primaria durante el año 2011.

**RESULTADOS:**

	VALORES DE REFERENCIA [1.2 – 2.6 ] nmol/L
Srm-Digoxina; c. sust.	< 1.2
(n=2488)	1195

**Conclusiones:**

De los resultados obtenidos durante el periodo de un año, el 48% son concentraciones inferiores al intervalo de referencia. Estos resultados son motivo de reflexión y análisis de las causas que los puedan estar produciendo:

- Ajuste incorrecto de la dosis.
- Incumplimiento o abandono del tratamiento por parte del paciente.
- Horario inadecuado en la obtención de la muestra (teniendo en cuenta la farmacocinética de la digoxina).

Como consecuencia de los resultados que se han objetivado se ha establecido un plan de actuación conjunto del Servicio de Farmacia y el Laboratorio de Urgencias, consistente en ofrecer información individualizada para cada fármaco cuando se solicite la prueba. Haciéndose extensivo a todos los fármacos que se procesan en nuestro laboratorio.

**ESTUDIO DE PORFIRIAS EN UN LABORATORIO DE ASISTENCIA PRIMARIA**

*Autor/a/s:* Ana Luisa Mañas Marcuello, Sonia Herrero Otero, Eva Ribera Martín, Angeles Zabaleta Alañá, Salvador Ventura Pedret, Virtudes Alvarez Funes

*Centro de trabajo:* CAP Just Oliveras

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* alma01970@hotmail.com

**Introducción:**

Las porfirias son enfermedades metabólicas de baja prevalencia, originadas por alteraciones de los enzimas que intervienen en la síntesis del hem, principal componente de la hemoglobina. Se clasifican en dos grupos: Porfirias agudas y Porfirias cutáneas.

Las principales porfirias agudas son la Porfiria Intermitente Aguda (PIA), la Porfiria Variada (PV), y la Coproporfiria Hereditaria (CPH) que cursan con ataques agudos de dolor abdominal y síntomas neurológicos severos. La clínica de este ataque agudo es indistinguible clínicamente en las tres porfirias y sólo el laboratorio permite la adecuada clasificación de la enfermedad. Dentro de las porfirias cutáneas están la Porfiria Cutánea Tarda (PCT), la Protoporfiria Eritropoyética (PPE) y la Porfiria Eritropoyética Congénita (PEC) también llamada enfermedad de Günther. Afectan principalmente a la piel y no causan síntomas agudos en otros órganos

La confirmación diagnóstica se realiza mediante la determinación de porfirinas en orina, heces o sangre.

**Objetivo:**

Evaluar la demanda y los resultados de las pruebas diagnósticas de porfirias en un laboratorio de asistencia primaria durante 2011.

**Material y Métodos:**

Se realiza un análisis de todas las peticiones de porfirinas, solicitadas en 2011 en nuestro laboratorio. Las pruebas incluidas en este análisis han sido: 5-aminolevulinato (ALA) y Porfobilinógeno (PBG) en orina, como pruebas de cribaje ante la sospecha de una porfiria aguda, Porfirinas en orina y sangre como pruebas de cribaje de una porfiria cutánea y porfirinas en heces como prueba confirmatoria de ambos tipos de porfirias.

**Resultados y Discusión:**

Se han encontrado un total de 39 peticiones de porfirinas durante el año 2011 (26 peticiones de porfirinas en orina, 7 de PBG en orina, 5 de porfirinas en sangre y 5 de porfirinas en heces). Encontramos que 9 peticiones (23%) no se pudieron realizar por incidencias en la muestra, de las cuales solo se repiten 3; una se repite a pesar de no tener ninguna incidencia. Del total de peticiones, 19 corresponden a mujeres y 20 a hombres. La mediana de edad es de 52 años (percentil 25 de 38,5 años y percentil 75 de 60,5 años). 12 peticiones provienen de los servicios de dermatología, 6 de digestivo y el resto de los médicos de familia. Solo 2 resultaron patológicas, una de ellas con una orientación diagnóstica de dolor abdominal recidivante y otra sin diagnóstico; la primera no se ha confirmado el diagnóstico y la segunda se confirmó como PCT en otro laboratorio. No se encontró ningún resultado patológico en el resto de pruebas (porfobilinógeno en orina, porfirinas en sangre y porfirinas en heces). No se ha recibido ninguna petición de ALA.

**Conclusiones:**

Se ha diagnosticado un caso de PCT y otro con alteración de porfirinas en orina pero sin confirmación diagnóstica.

Las condiciones preanalíticas de la muestra para el estudio de las porfirias son especiales ya que han de estar protegidas de la luz; esto explica el alto porcentaje de incidencias de muestras.

**INICIO DEL CRIBADO PRENATAL DE CROMOSOMOPATÍAS DURANTE EL PRIMER TRIMESTRE DE EMBARAZO EN EL HOSPITAL DE ALTA RESOLUCIÓN DE ALCAUDETE**

*Autor/a/s:* (Perales Molada Maria Teresa, López Robledillo Rosa, Ortega Rodriguez Maria Dolores, Garcia Carriazo Margarita y Aguilar Benitez José Miguel)

*Centro de trabajo:* (Hospital de alta Resolución de Alcaudete)

*Provincia:* (Jaén)

*Correo electrónico del primer firmante:* (tperalesmo@hotmail.com)

**Introducción:**

Desde los años 70 se han empleado diferentes métodos de cribado prenatal de anomalías cromosómicas ya que se estima que 1 de cada 500 mujeres tendrá un feto afectado con alguna alteración genética. Para detectar estas anomalías se empezó a realizar el cribado de segundo trimestre o triple screening, pero en los últimos años se ha ido sustituyendo por el estudio combinado de primer trimestre que permite una estimación de riesgo más precoz. Se llama combinado porque se realiza en base a datos ecográficos del feto como la medida de la translucencia nucal (TN) y a datos bioquímicos de la madre como la determinación de la fracción beta libre de la gonadotropina coriónica humana (hCG-libre) y de la proteína plasmática asociada al embarazo (PAPP-A).

Con los estudios de cribado prenatal se pretende obtener una estimación de riesgo que permita evitar que la paciente se someta a técnicas invasivas como el estudio del líquido amniótico mediante amniocentesis o la biopsia corial, que si bien nos permiten un diagnóstico de estas alteraciones, suelen ir asociadas a un porcentaje de riesgo de pérdida fetal.

**OBJETIVO:**

El objetivo de este trabajo es describir nuestra experiencia de dos años tras la sustitución del cribado de segundo trimestre por el estudio combinado de primer trimestre para detección prenatal de aneuploidías cromosómicas.

**Material y Métodos:**

Se han estudiado un total de 125 mujeres en el Hospital de Alta Resolución de Alcaudete durante los años 2010 y 2011. Se determinaron los parámetros bioquímicos hCG-libre y PAPP-A en la semana 10 de gestación mediante método quimioluminiscente en el equipo INMULITE 1000 de Siemens. A todas las embarazadas se les realizó ecografía abdominal en la semana 12 de gestación, determinado tanto la TN como la longitud céfalo-caudal (CRL). La estimación del riesgo se realizó mediante el programa informático PRISCA (Siemens diagnostic) teniendo en cuenta además datos como la edad de la gestante, peso, etnia,

embarazo gemelar, tabaquismo, diabetes y si el embarazo se había producido mediante fecundación in vitro (FIV).

## RESULTADOS:

De las 125 gestante estudiadas, el programa PRISCA estimó que 108 (86,4%) tenían bajo riesgo de que el feto tuviese trisomía 21 (síndrome de Down) o trisomía 18 (síndrome de Edwards). En 17 mujeres (13,6%) se obtuvo una probabilidad de riesgo alta (superior a 1/270). Mediante ampliación del estudio ecográfico y el estudio bioquímico con el triple screening, sólo se recomendó estudio genético mediante amniocentesis a 9 pacientes (7,2%), de las cuales sólo 4 se la hicieron. Todos los embarazos excepto uno por aborto terapéutico llegaron a término.

## Conclusiones:

El estudio combinado de cromosomopatías del primer trimestre se ha mostrado como una herramienta eficaz para descartar precozmente riesgo elevado de alteraciones genéticas en el feto, evitar técnicas más agresivas como la amniocentesis o biopsia corial, y poder anticiparnos y tomar actitudes diagnósticas y propuestas terapéuticas en caso de interrupción voluntaria del embarazo (IVE).

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 216**

### **ESTABILIDAD DE LOS IONES SODIO Y POTASIO EN SUERO A LO LARGO DEL TIEMPO, EN RELACIÓN A UNAS DETERMINADAS CONDICIONES DE TEMPERATURA Y ALMACENAMIENTO**

*Autor/a/s:* SALVADOR MADRID ROSADO, DANIEL PINO LOPEZ, SOFIA GARCIA PINO.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL COSTA DEL SOL

*Provincia:* MALAGA

*Correo electrónico del primer firmante:* MADRIDSAL@HOTMAIL.COM

## INTRODUCCIÓN:

En La práctica diaria de nuestro laboratorio nos solicitan hacer repeticiones de pruebas ya realizadas, a partir de un suero ya analizado y almacenado en las condiciones estándar del laboratorio (cámara frigorífica a una temperatura de 4-8 °C en un tubo primario con gel separador) para la comprobación de resultados patológicos y también se amplían nuevos parámetros para completar el estudio de los pacientes.

## OBJETIVO:

El resultado de las magnitudes bioquímicas pueden verse modificadas en función del tiempo y las condiciones de almacenamiento de la muestra, por lo que en este trabajo vamos estudiar las variaciones de resultado en dos magnitudes muy influenciadas por estas circunstancias, como son el Sodio (NA) y el Potasio (K).

## Material y Métodos:

Se escogieron al azar 20 muestras de pacientes hospitalizados, que se extrajeron y enviaron rápidamente al laboratorio. Se determinaron los niveles de NA y K. Se alicuotaron las muestras y se conservaron en frío y a temperatura ambiente, tapadas con parafilm y destapadas, y se determinaron de nuevo los niveles de iones a los 2, 4 y 6 días. Los resultados se compararon con los basales utilizando la Prueba t de Student para muestras con varianzas iguales, considerando diferencias significativas con una  $p < 0,01$

## RESULTADOS:

Los resultados obtenidos mostraron diferencias significativas ( $p < 0,01$ ) en todos los casos de almacenamiento y en todos los tiempos para el NA.

En el caso del K, a los 2 días refrigeradas y tapadas con parafilm y refrigeradas y sin tapar con parafilm no se mostraron diferencias significativas ( $p = 0,12$  y  $p = 0,043$  respectivamente) y diferencias significativas ( $p < 0,01$ ) en los demás casos.

## Conclusiones:

Las determinaciones de iones deben ser realizadas, a ser posible, en el mismo día de la extracción de las muestras. En el caso de ser conservadas, estas deben estar refrigeradas y siempre tapadas para evitar la evaporación de la muestra. Los resultados obtenidos en este trabajo, pueden ser debidos a la obtención de alícuotas (menos cantidad de muestra y más posibilidad de evaporación de la misma) y a la baja cantidad de muestras seleccionadas. En cualquier caso podemos concluir que la estabilidad del NA y K en función del tiempo y las condiciones de almacenamiento es muy baja.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 218**

### **PRESENTACIÓN DE UN CASO CLÍNICO DE GLOMERULONEFRITIS RÁPIDAMENTE PROGRESIVA TIPO I EN PACIENTE DE 22 AÑOS**

*Autor/a/s:* Cristina García Guzmán, Teresa Figueroa Montesinos, Elena García García, Lorena Benitez Hernández, Lorena Roldán Muelas, Alicia Teresa Pelaez Muñoz, Cristina Salvador Amuedo

*Centro de trabajo:* Laboratorio de Urgencias BR Salud. Hospital del Tajo

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* crissi\_gaty84@hotmail.com

## Introducción:

La Glomerulonefritis Rápidamente Progresiva (GNRP) es un síndrome renal que, sin un tratamiento adecuado, puede evolucionar a una insuficiencia renal aguda y la muerte del individuo en poco tiempo, lo que la hace una importante causa de urgencia nefrológica. La GNRP se suele clasificar en 3 grupos, basados en aspectos inmunohistológicos, que implican todos ellos un daño al glomérulo mediado por el sistema inmune: GNRP tipo 1, asociada a anticuerpos anti-membrana basal (como el Síndrome de Goodpasture, con componente respiratorio) (representa el 20% de todas las GNRP); GNRP tipo 2, asociada a complejos inmunes (representa el 60%); y la denominada GNRP paucimune, tipo 3, con ANCA positivo (Enfermedad de Wegener o Síndrome de Churg-Strauss) (representa el 20%).

## OBJETIVO:

Presentar un caso clínico de GNRP tipo 1 en base a los siguientes criterios: originalidad y baja frecuencia de la entidad y el papel fundamental del laboratorio en el rápido diagnóstico clínico.

## PRESENTACIÓN DEL CASO:

Mujer de 22 años de edad que acude al Servicio de Urgencias del hospital del Tajo por un cuadro de astenia y mal estar general, de meses de evolución. De la anamnesis destaca que la paciente presenta cefalea jaquecosa y macrohematuria, de unos meses de evolución y diarrea, vómitos e intolerancia oral a sólidos y líquidos, desde hace 4-5 días. Además, refiere oliguria, nicturia y tenesmo vesical de unos meses de evolución.

ANALÍTICA al ingreso: Hematología: hemoglobina 9,6 g/dL; bioquímica sérica: urea 138 mg/dL, creatinina 9,2 mg/dL, K+ 8,0 mEq/L; gasometría: pH 7,32, bicarbonato 17,6 mmol/L; perfil básico de orina: >200 hemáties/ $\mu$ L, proteínas >300 mg/dL.

Se hace un diagnóstico inicial de glomerulopatía subaguda de etiología incierta, con fracaso renal agudo, acidosis e hiperpotasemia. La paciente precisa hemodiálisis aguda.

Pruebas complementarias: Biopsia renal que demuestra la presencia de complejos en disposición de semiluna y anticuerpos anti-membrana basal glomerular positivos, que apoyan el diagnóstico de GNRP tipo 1.

La paciente fue tratada con esteroides e inmunosupresores sin mostrar mejoría en la función renal, demostrado por la tasa de filtración glomerular, por lo que inicia programa de hemodiálisis de forma crónica.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

- Programa de Selene para la gestión de datos del paciente y Programa Servolab para la gestión de datos en el laboratorio.

- Dimension Xpand plus, para la determinación de los parámetros bioquímicos en suero; ADVIA 1200, para la obtención del hemograma; RapidPoint 405, para medición de gases y parámetros calculados en sangre; y CLINITEK Advantus, para el perfil básico de orina, todos ellos de SIEMENS HCD.

## DISCUSIÓN:

Se puede observar que en el caso clínico que presentamos se producen los principales fenómenos diagnósticos de la GNRP tipo 1: aparición de anticuerpos anti-membrana basal, que atacan los glomérulos renales disponiéndose en forma de "semi-luna" en el corte histológico y afectación severa de la función renal, reflejado por la concentración de creatinina sérica y la tasa de filtración glomerular. Además del rápido deterioro de la función renal, que provoca que la paciente precise de diálisis crónica, también destaca la precocidad en la aparición de los síntomas, pues la paciente tan solo tiene 22 años de edad.

## Conclusiones:

A pesar del rápido diagnóstico de la GNRP tipo 1 y que la paciente comenzara con un plan urgente de hemodiálisis, no se logró mantener la integridad de la función renal. Ello nos hace plantearnos la necesidad de seguir investigando en el descubrimiento de nuevos marcadores, tanto de función renal, como de autoinmunidad, e incluirlos en un panel de screening que nos permita la detección precoz de este tipo de enfermedades autoinmunes, dado el elevado gasto sanitario derivado de las sesiones de hemodiálisis. De este trabajo también destacamos el importante papel que tiene el laboratorio clínico a la hora de realizar un diagnóstico rápido y preciso de la GNRP tipo 1 y en la monitorización de la función renal.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 223**

### **EVALUACIÓN DE LAS METÓDICAS PARA DETERMINACIÓN DE ACIDO MIFENÓLICO EN PACIENTES TRASPLANTADOS RENALES.**

*Autor/a/s:* Martín Vega, José Valerio. Bolaños del Rosario, María del Carmen. Millán Martín Juan Carlos, María Candelaria Molina Ramírez.

Centro de trabajo: Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín

Provincia: LAS PALMAS DE GC

Correo electrónico del primer firmante: valmaveg@yahoo.es

### Introducción:

Las células linfocitarias juegan un papel fundamental en la regulación de la respuesta inmunológica ante la presencia del aloinjerto. Por ello las terapias inmunosupresoras más usuales tienen como objetivo modular la función de estas células T.

Dentro de estos inmunosupresores se encuentra el micofenolato mofetil (MMF), derivado semisintético del ácido micofenólico (MPA) que es su principio activo, actuando en la inhibición de la síntesis de los nucleótidos.

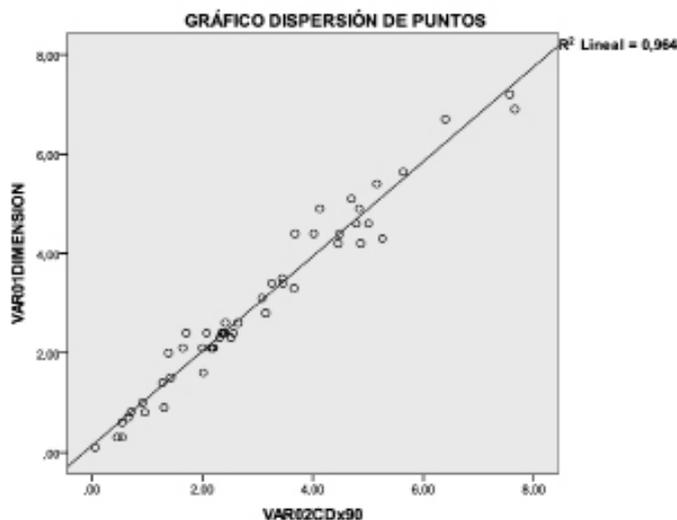
El presente trabajo está basado en la comparación de dos métodos analíticos para la determinación de dicho A. Micofenólico.

### Material y Método:

Se realizan sendas mediciones sobre un total de 50 muestras de pacientes trasplantados renal y tratados con Acido Micofenólico. Utilizamos el Dimension Xpand Plus de Siemens Laboratory, con metodología cuantitativa EMIT (Técnica de Inmunoanálisis Mediada por Enzima), basada en una técnica de inmunoensayo enzimático homogéneo, de competencia por los sitios de unión de los anticuerpos de MPA. Comparamos los resultados por otro equipo el CDx-90 de THERMO SCIENTIFIC; con metodología CEDIA (Cloned Enzyme Donor Immunoassay), utilizando como técnica de diagnóstico ADN recombinante, para producir un homogéneo único, basado en la modificación genética de la B-galactosidasa. Los datos se recogieron en una tabla de la aplicación Microsoft Office Excel y el análisis de las variables se realizó con el paquete estadístico de IBM SPSS Statistics v20.

### Resultados:

Se obtiene unas medias  $\pm$  desviación típica de  $2,9610 \pm 1,77551$  y  $2,9724 \pm 1,82928$  respectivamente, existiendo una correlación (Pearson) entre muestras relacionadas del 0,982. Y una recta de regresión de  $R = 0,982$ ; con una "R" corregida de 0,964. Estando representado en el siguiente gráfico. La evaluación de la recta es de  $Y = 0,129 + 0,953 X$ .



### Conclusiones:

Basándonos en los valores de Micofenolato obtenidos, la correlación y la recta de regresión calculada en la totalidad de los datos recogidos. Se puede considerar que ambas metodologías son intercambiables.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 224

### LA ORIENTACIÓN DIAGNÓSTICA EN LA SOLICITUD DE PROCALCITONINA MEJORA LA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS DESDE EL LABORATORIO DE URGENCIAS

Autor/a/s: Carmen Pilar Santana Armas, Adoración Díaz Jiménez, Clara Isabel Marrero Pérez, Juana Rosa Cardona Díaz, Gregorio Muelas Martín, Lucía Loreto Quintana Hidalgo, Ruth Martín Alfaro.

Centro de trabajo: Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín

Provincia: Las Palmas

Correo electrónico del primer firmante: mesain61@hotmail.com

### Introducción:

La procalcitonina (PCT) es una prohormona de aproximadamente 13 kD, formada por 116 aminoácidos. La sangre de individuos sanos contiene niveles bajos de PCT. Su concentración aumenta ante situaciones clínicas de respuesta inflamatoria general ante una

agresión (infección bacteriana, cirugía, traumatismo, quemaduras) o síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS). Cuando la causa del SRIS es una infección bacteriana se denomina Sepsis (S). Niveles aumentados de PCT son frecuentes en pacientes con Shock Séptico (SS), situación clínica que se produce cuando la hipotensión inducida por la sepsis persiste tras la reposición de líquidos causando hipoperfusión y disfunción de órganos.

La PCT se considera un buen marcador para el diagnóstico, pronóstico y seguimiento de estos pacientes.

### Objetivo:

Evidenciar que la cumplimentación de la orientación diagnóstica en la solicitud de PCT puede mejorar la comunicación de resultados desde el laboratorio de urgencias, siendo más útiles para las decisiones terapéuticas.

### Material y Métodos:

Revisión de las orientaciones diagnósticas de las peticiones de analítica recibidas en el laboratorio de urgencias durante el mes de Octubre de 2011, donde se solicitó la determinación de PCT.

Utilizando el Sistema Informático del Laboratorio (OMEGA 2000), contrastamos las orientaciones diagnósticas con los resultados de PCT (valor de referencia  $< 0,5$  ng/mL) obtenidos en todas las peticiones.

La PCT se determinó mediante inmunoensayo de electroquimioluminiscencia en un inmunoanálizador cobas e (Roche Diagnostics), que permite la determinación cuantitativa.

### Resultados:

Revisamos 577 peticiones, 357 (61%) varones y 220 (39%) mujeres, un 23,4% no tenían cumplimentada la orientación diagnóstica.

Clasificamos como SRIS todas las orientaciones diagnósticas que se correspondían con resultados de  $PCT \leq 2$  ng/mL (445 peticiones), S los resultados de  $PCT > 2$  ng/mL -  $\leq 10$  ng/mL (83 peticiones), SS los resultados de  $PCT > 10$  ng/mL (49 peticiones).

Encontramos 32 peticiones con resultado de  $PCT \leq 2$  ng/mL (7%) con orientación diagnóstica no informada. De éstas un 25,8 % tenían un resultado  $\geq 0,5$  ng/mL, lo que sin información clínica nos indica una posible infección bacteriana donde se aconseja iniciar tratamiento antimicrobiano.

En el 8,4% de las peticiones (7) con resultados de  $PCT > 2$  ng/mL -  $\leq 10$  ng/mL no se informaba la orientación diagnóstica. La falta de datos clínicos nos lleva a pensar que estamos ante una Sepsis probable, siendo pacientes con un alto riesgo de progresión a infección sistémica severa.

Del grupo de peticiones con resultados de  $PCT > 10$  ng/mL, un 8 % (4) fueron remitidas al laboratorio sin información clínica. La mitad de ellas procedían del Servicio de Anestesia y pudimos confirmar por teléfono que estos pacientes habían sido sometidos a cirugía cardíaca, lo que justificaba el resultado de PCT obtenido. Las otras 2 peticiones procedían de la Unidad de Medicina Intensiva, donde constatamos que la situación clínica de estos pacientes se correspondía con Shock Séptico.

### Conclusiones:

Conocer la orientación diagnóstica cuando se solicita la determinación de PCT en el laboratorio de urgencias nos ayuda a mejorar la comunicación de resultados.

La PCT permite la detección precoz del SRIS, S y SS, permitiendo instaurar las medidas de soporte necesarias y la instauración inmediata del tratamiento antimicrobiano adecuado.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 225

### ESTUDIO COMPARATIVO DE LA TROPONINA T CON LA TROPONINA T ULTRASENSIBLE

Autor/a/s: ROMERO GARCÍA P; NÚÑEZ GARCÍA C; GONZÁLEZ MARTÍN S; BOYERO SIERRA C; MATAS LLORENTE P; HERNÁNDEZ CERCEÑO M L.

Centro de trabajo: COMPLEJO ASISTENCIAL DE SALAMANCA

Provincia: SALAMANCA

Correo electrónico del primer firmante: PAROGAR\_12@HOTMAIL.COM

### INTRODUCCIÓN:

Las troponinas son proteínas que forman parte de los mecanismos de regulación de la contracción del músculo cardíaco y cualquier lesión de las células cardíacas causan su liberación a la circulación sanguínea. A diferencia de otros marcadores cardíacos, la troponina es cardioespecífica, no se detecta en el músculo esquelético.

Su determinación es capaz de distinguir no sólo pacientes con infarto agudo de miocardio sino que establece un diagnóstico diferencial en pacientes con síndrome agudo coronario. En el laboratorio este diagnóstico se establece por variaciones en las concentraciones de las enzimas presentes en el músculo cardíaco.

### OBJETIVO:

Comparación de los valores de la troponina T ultrasensible y la troponina T en la misma muestra.

## Material y Métodos:

Se analizaron 84 muestras recibidas en el laboratorio de urgencias del Complejo Asistencial de Salamanca, tratadas con heparina de litio. Ambas determinaciones se procesaron en un COBAS e 411 de ROCHE, por un método de electroquimioluminiscencia.

La troponina T tiene un límite de detección de 0.010 ng/ml mientras que el de la troponina T ultrasensible es de 3pg/ml.

## RESULTADOS:

Se analizan con un programa estadístico SPSS 15.0 obteniéndose una correlación de Pearson de 0.998 y una regresión que muestra un R cuadrado de 0,996.

## Conclusiones:

Debido a que las dos técnicas presentan una buena regresión, cuando los valores se encuentran por encima del límite de detección pueden utilizarse ambas indistintamente. Sin embargo, para detectar valores inferiores a la sensibilidad de la técnica de la troponina T, resulta más ventajoso utilizar la troponina T ultrasensible. En nuestro laboratorio se utiliza la troponina T ultrasensible para detectar elevaciones discretas en pacientes con daño miocárdico.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 229

## FÁRMACOS ANTICONVULSIVOS

*Autor/a/s:* Pérez Santamaría, Lourdes Yolanda y Marlasca Gallego, María del Mar; Pinar Iranzo, Jose Ignacio

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Miguel Servet

*Provincia:* Zaragoza

*Correo electrónico del primer firmante:* lourdesbio8@hotmail.com

## INTRODUCCIÓN

Los fármacos anticonvulsivos también llamados antiepilépticos son utilizados para prevenir las posibles crisis convulsivas así como para detenerlas, también para el trastorno bipolar, el dolor neural o la fibromialgia.

La monitorización es un intento de conseguir la valoración periódica de los niveles de estos fármacos permitiendo una información de la dosificación óptima individualizada.

Los utilizados son: Carbamacepina, Fenitoína, Fenobarbital y Valproato.

La Carbamacepina es un antiepiléptico estabilizador del ánimo usado principalmente para el tratamiento de la epilepsia y del trastorno bipolar. La fenitoína actúa bloqueando la actividad cerebral no deseada mediante la reducción de la conductividad eléctrica entre las neuronas tiene efectos también como agente antiarrítmico. El fenobarbital es un barbitúrico, tiene propiedades sedante e hipnóticas, el anticonvulsivo más usado en la actualidad su nombre comercial es el Luminal®. El ácido valproico es un anticonvulsivo que a diferencia de otros su acción sedante es mínima también es significativo sobre la migraña.

## Objetivos:

Valorar el número de solicitudes de los fármacos anticonvulsivos. Por sexo, franjas por edades y determinación por exceso y defecto terapéutico.

## MATERIAL Y METODO:

Se utilizaron muestras sanguíneas procedentes de distintos servicios de nuestro hospital: Urgencias, ucis, plantas de la general, trauma, maternal, infantil, consultas externas y centros de salud. Estas determinaciones se realizan ARCHITECT i 1000 SR de ABBOTT por inmunoanálisis de micro partículas químio-luminiscentes.

Los valores terapéuticos de los fármacos son:

Carbamacepina : 4 - 12 mg/L

Fenobarbital : 15 - 40 mg/L

Fenitoína : 3 - 20 mg /L

Valproato : 50 - 100 microgr/ml

## RESULTADOS:

De 2363 pacientes recibidos en el año 2011 en nuestro hospital su distribución en los distintos anticonvulsivos ha sido:

-Carbamacepina: hombres 197(54.3%), mujeres 152(41.9%), sin identificar 3(0.8%), no se detecta 11(3%).

-Fenitoína: hombres 97 (57%), mujeres 66 (38.8%), sin identificar 1 (0.6%), no se detecta 6 (3.5%).

-Fenobarbital: hombres 114 (54.3%), mujeres 90 (42.9%), no se detecta 6 (2.8%)

-Valproato: hombres 901 (50%), mujeres 854 (47.4%), sin identificar 19 (1.05%), no se detecta 28 (1.55%).

Por franjas de edad:

	HOMBRES	MUJERES
X<=25	313	220
26<=X<=45	336	314
46<=X<=65	297	350
66<=X<=96	188	174

## Conclusiones:

Se puede observar que en los distintos tipos de fármacos anticonvulsivos, carbamacepina, fenitoína, fenobarbital y valproato predominan los hombres ante las mujeres. En las franjas de edad también predominan los hombres menos en la franja que va de 46 a 65 años donde predominan las mujeres.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 230

## FORMACIÓN DE EMBRIONES TOP QUALITY EN D3 EN FUNCION DE ESPERMATOZOIDES SELECCIONADOS CON ANEXINA V

*Autor/a/s:* Diego Becerra Fernández, Manuela Alonso Nieto, Ana Martínez Fernández, David Agudo Garcillán, Fernando Bronet Campos

*Centro de trabajo:* IVI MADRID

*Provincia:* MADRID

*Correo electrónico del primer firmante:* Diego.Becerra@ivi.es

## Introducción:

Las técnicas de capacitación espermática empleadas habitualmente en los tratamientos de reproducción están basadas en la selección de espermatozoides móviles. Hoy en día está ampliamente demostrado que la integridad del ADN espermático también puede influir en la infertilidad masculina y que es de gran importancia en el inicio y mantenimiento de un embarazo viable, tanto en reproducción asistida como en concepción natural. La fragmentación del ADN espermático puede variar en distintos eyaculados de un mismo paciente y además aumenta considerablemente cuando la muestra se somete a un proceso de congelación/descongelación previo a su utilización en tratamientos de reproducción asistida. Recientemente se ha desarrollado un nuevo método para aislar, mediante separación magnética, células que reaccionan frente a Anexina V (compuesto que se une a residuos de fosfatidil serina en la superficie celular) como método no invasivo para reducir el porcentaje de espermatozoides apotóticos.

Nuestro objetivo es determinar si la utilización de la técnica de selección de espermatozoides mediante la reacción a Anexina V, en sémenes congelados, influye en el desarrollo embrionario aumentando o disminuyendo la capacidad de formación de embriones TOP QUALITY (TQ) en día 3, considerando como embriones TQ aquellos que presentan de entre 7 y 9 células, fragmentación  $\leq$  de 10% y simetría  $\leq$ 2.

## MATERIALES Y MÉTODOS:

En el estudio se incluyen un total de 446 embriones pertenecientes a 76 parejas de tratamientos de ovodonación (para normalizar el factor femenino en todos los casos de estudio) y semen congelado tanto de pacientes como de donantes.

Los grupos de estudio están divididos en 238 embriones pertenecientes a 36 parejas del grupo control y de 228 embriones pertenecientes a 40 parejas del grupo Anexina V y comparar el porcentaje de embriones TQ de los ciclos en los que se ha hecho una preparación de la muestra mediante gradientes de densidad y swim up (grupo control) frente a los ciclos en los que además se han seleccionado los espermatozoides mediante columnas de Anexina V

## Resultados:

Grupos	Nº de embriones	Nº embriones TQ D3	Porcentaje de embriones TQ (%)
Control	238	68	28,57
Anexina V	228	81	35,52

## Conclusiones:

Se observa una tendencia al alza en el porcentaje de embriones TQ en D3 obtenidos en los ciclos con sémenes tratados con Anexina V, siendo la diferencia de 7 puntos. Sin embargo esta diferencia no es significativa. El tamaño muestral debe ser aumentado para obtener Conclusiones definitivas.

**INCORPORACIÓN DE LA B-HCG EN EL PETITORIO URGENTE DEL LABORATORIO**

*Autor/a/s:* Carmen Mendoza Ruiz, María Begoña Gloria Varela Soto, María Aranzazu Díez de Diego, Patricia de la Hera Cagigal y Francisco Javier Aguayo Gredilla.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO DE BASURTO

*Provincia:* BIZKAIA

*Correo electrónico del primer firmante:* carmenmendoza4@gmail.com

**INTRODUCCIÓN:**

La gonadotropina coriónica humana (HCG) es una glicoproteína producida por las células del trofoblasto y su función consiste en mantener el cuerpo lúteo durante el embarazo. Durante el embarazo normal su concentración se duplica cada dos días, hasta alcanzar las 10.000 mIU/ml. Un aumento menor es sugestivo de embarazo no viable (aborto o embarazo ectópico). Se define como embarazo ectópico a la nidación del huevo fecundado fuera de la cavidad uterina, siendo la prueba más eficiente para su diagnóstico la combinación de ecografía transvaginal y la determinación seriada de B-HCG.

**Objetivos:**

Evaluar la precisión analítica del test y revisar la evolución e indicación de la demanda de dicha técnica durante el primer trimestre de su implantación en el laboratorio de urgencias

**Material y Métodos:**

Para el estudio de la precisión se utilizaron los controles Elecsys Precicontrol Tumor Marker (TM I y TMII) realizándose los análisis en el autoanalizador Cobas 6000 (Roche). Se analizaron los controles durante 10 días consecutivos y se calcularon la media, desviación estándar y el coeficiente de variación.

Se obtienen los datos demográficos y de actividad trimestral (Diciembre 2011- Febrero 2012) mediante una consulta Excel sobre la base de datos del sistema informático del laboratorio (Omega).

**RESULTADOS:**

En el estudio de precisión se obtuvieron los siguientes resultados. Media=7,897; s = 0.007; CV=0.86(para el control TM I) y Media 816; s = 4.63; CV=0.57 (para el control TM II).

Los datos de actividad evolutivos fueron los siguientes: 11 determinaciones en Diciembre 2011 (correspondientes a 5 embarazos ectópicos y 1 otras causas) 19 determinaciones en Enero 2012 (correspondientes a 4 embarazos ectópicos, 2 abortos y 1 otras causas) y 13 determinaciones en Febrero 2012 (correspondientes a 6 embarazos ectópicos, 2 abortos y 2 otras causas).

Globalmente hemos estudiado un 68% de embarazos ectópicos, un 18% de abortos y un 14% de otras causas.

**Conclusiones:**

- 1.- La técnica de determinación resultó ser de gran precisión, con unos Coeficientes de Variación < 1% tanto para el control normal (TM I) como para el control patológico (TM II).
- 2.- La principal causa de petición fue el embarazo ectópico (68%) seguida del aborto (18%). Se detectaron hasta un 14% de solicitudes fuera de estas dos situaciones, que son las únicas indicaciones urgentes de determinación de B-HCG.
- 3.- El número de determinaciones mensuales realizadas ha resultado bastante distinto entre los tres meses estudiados, debido a la naturaleza aleatoria de la patología que se estudia. Se necesitaría un estudio a mayor plazo para evaluar la evolución de la demanda de esta técnica.

**VALORES NORMALES DE NT- PROBNP EN LAS DIFERENTES ETAPAS DE LA INFANCIA.**

*Autor/a/s:* Sofía González Martín, Paula Romero García, M<sup>o</sup> Carmen Casado Hernández, M<sup>o</sup> Carmen Núñez García, Piedad Matas Llorente, Melania Hernández Benito y María Luisa Hernández Cerceño.

*Centro de trabajo:* Complejo Asistencial de Salamanca

*Provincia:* SALAMANCA

*Correo electrónico del primer firmante:* sofigonmar@hotmail.com

**Introducción:**

El péptido natriurético tipo B (BNP), es una neurohormona cardíaca liberada en los ventrículos como mecanismo de defensa del organismo, en respuesta al aumento de volemia, de la presión miocárdica y en diferentes patologías cardíacas.

El proBNP es escindido por una proteasa en proBNP- N-terminal (NT-proBNP) y la hormona biológicamente activa, BNP.

Aunque se está utilizando en adultos, consideramos que también tiene interés en cardiopatías infantiles, así como en la evolución del cierre del foramen oval y ductus arteriovenoso en neonatos.

Consideramos imprescindible, para ello, establecer rangos normales de NT- ProBNP en las diferentes etapas de la infancia, puesto que no existe mucha información al respecto.

**Objetivos:**

Establecer los valores normales de NT-proBNP en neonatos (de 0- 15 días), lactantes (de 16 días – 1 año), infantiles (de 1 año – 4 años) y escolares (de 4 años hasta los 14años), aunque si bien para hacer las distintas categorías hemos expresado los años en días.

**Material y Métodos:**

Se han estudiado 171 plasmas y/o sueros de niños de edades comprendidas entre 0 y 14 años, provenientes del Servicio de Pediatría del Hospital Clínico Universitario de Salamanca.

Se han recategorizado en: 45 neonatos, 47 lactantes, 22 infantiles y 53 escolares.

Las muestras han sido procesadas en un analizador Cobas e 411 de Roche Diagnostics (inmunoensayo de electroquimioluminiscencia).

El análisis estadístico se ha realizado mediante el programa SPSS 15.0.

**Resultados:**

Se han realizado pruebas de normalidad para los 4 grupos, observando que las muestras se comportan como no normales para la prueba NT- proBNP, por lo cual se han determinado medianas.

La mediana obtenida para cada grupo, es la siguiente:

- Grupo 0 (neonatos): 2107 pg/ml (percentiles entre 2494,91 y 4818,36).
- Grupo 1 (lactantes): 184.6 pg/ml (percentiles entre 161,91 y 264,99).
- Grupo 2 (infantiles): 92.9 pg/ml (percentiles entre 93,35 y 285,15).
- Grupo 3 (escolares): 65,9 pg/ml (percentiles entre 70,33 y 120,25).

Los grupos están comparados entre sí y se ha observado que las diferencias más significativas están entre los neonatos con respecto a los demás grupos, en el Test de U de Mann- Whitney. Entre el grupo 0 y 1: p=0.00.

En el resto de las categorías, la comparación quedaría así:

- entre grupo 0 y 2: p=0.00.
- entre grupo 0 y 3: p=0.00-
- entre grupo 1 y 2: p= 0.087.
- entre grupo 1 y 3: p= 0.00.
- entre grupo 2 y 3: p=0.092.

**Conclusiones:**

Se han establecido los valores normales de NT-ProBNP en las 4 etapas de la vida infantil y se han encontrado diferencias considerables dependiendo de la edad.

Los neonatos presentan fisiológicamente unos valores muy elevados, debido a que no se ha efectuado el cierre del foramen oval y ductus arteriovenoso, que se suele cerrar en los primeros días de vida.

Los cambios en la circulación en el momento del alumbramiento, aumentan el volumen en el ventrículo izquierdo, lo que induce a una elevación del NT-proBNP plasmático.

Con el tiempo, los valores van disminuyendo, pero hasta llegar a los valores normales del adulto joven, suelen tardar unos meses, por lo que nos vemos obligados a segmentar la muestra en cuatro grupos dependiendo de la edad.

Efectivamente, a partir del año, las diferencias son mucho menos significativas y se encuentran medianas cada vez más bajas.

**COMPARACIÓN DE MÉTODOS PARA EL SODIO Y EL POTASIO**

*Autor/a/s:* VANESSA CRIADO CASAS, VERONICA CALAHORRO AGUILAR, JAVIER MERÇE MUNTANYOLA, INMACULADA PORCEL,

*Centro de trabajo:* HOSPITAL DE LA SANTA CREU I SANT PAU

*Provincia:* BARCELONA

*Correo electrónico del primer firmante:* vane150287@hotmail.com

**Introducción:**

El catión sodio (Na+) es fundamental en la transmisión del impulso nervioso, también mantiene el volumen y osmolaridad plasmática. Participa en la contracción muscular, el equilibrio ácido-base y en la absorción de nutrientes en las membranas.

El potasio está involucrado en el mantenimiento del equilibrio normal del agua, el equilibrio osmótico entre las células y el fluido intersticial, y el equilibrio ácido-base, determinado por el pH del organismo.

## Objetivo:

Valorar si los resultados obtenidos por ambos métodos son intercambiables entre sí.

## Material y Método:

100 Muestras de sangre total en jeringa heparinizada

100 Muestras de plasma obtenidas en tubos con heparina de litio

Utilizamos dos aparatos:

- ABL 800 FLEx, método amperométrico que mide la magnitud de una corriente eléctrica entre una cadena de electrodos, que a su vez resulta proporcional a la concentración de la sustancia que es oxidada o reducida en un electro en cadena.

- Architect plus ci 16200, autoanalizador bioquímico para la medida de los iones usa un método potenciométrico.

Se ha comparado el resultado de las muestras de sangre total pasadas por el ABL 800 FLEX con los resultados obtenidos en el Architect con la muestra de plasma heparinizado.

Se han comparado los resultados de los dos tipos de muestra mediante el método de Altman y Bland, para evaluar la concordancia entre los dos métodos de medida.

El método estadístico Bland-Altman que propone un gráfico sencillo para evaluar la concordancia entre dos métodos de medida. Consiste en representar la diferencia entre cada pareja de valores frente a la media de cada pareja. En el caso de que no haya error sistemático los puntos se distribuirán de forma aleatoria a uno y otro lado de la recta correspondiente a la diferencia 0 entre medidas.

## Resultados:

Después de representar los resultados en una gráfica observamos que en la gráfica del sodio los resultados obtenidos entre los dos métodos están distribuidos mayoritariamente por encima de la línea del cero, y algunos por debajo de ella y la diferencia no aumenta con la concentración. Y en la gráfica del potasio, observamos que los resultados obtenidos entre los dos métodos están distribuidos arriba y debajo de la línea del cero, y las diferencias no superan los 0,2 mmol/l y no varían al aumentar la concentración.

## Conclusiones:

Podemos concluir que no existe error sistemático y por lo tanto ambos métodos son intercambiables para el sodio y el potasio.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 250**

### EVALUACIÓN DEL ANALIZADOR DE GASES

*Autor/a/s:* Rodríguez Carreño, Mireia. López Sanchez Isabel

*Centro de trabajo:* Urgencias HMT.CatLab

*Provincia:* BARCELONA

*Correo electrónico del primer firmante:* mrc1921@hotmail.es

## INTRODUCCIÓN

Para sustituir un analizador por otro es importante estudiar y comparar sus diferencias y semejanzas. Los analizadores comparados son Gem Premier 3000 (IL) y Cobas b 123 (Roche).

## OBJETIVO

Realizar una evaluación del analizador de gases Cobas b 123 (Roche) y estudiar la intercambiabilidad de los resultados con el analizador Gem Premier 3000 (IL), que se está utilizando.

## Material y Métodos

Las muestras procedían de pacientes del servicio de urgencias y de pacientes ingresados en la planta de hospitalización. El análisis de las muestras se realizó simultáneamente por ambos analizadores.

Para el estudio de la imprecisión interserie (n= 65) e intraserie (n= 40) se utilizaron controles: Auto QC Pack Control de los niveles 1, 2 y 3 (Roche). Para la valoración de los resultados se utilizaron muestras de pacientes (n= 51) y se trataron mediante los métodos de Passing Bablok y la correlación de Pearson con el programa estadístico Analyse-it + Clinical Laboratory.

## RESULTADOS

ESTUDIO DE PRECISIÓN INTERSERIE

	Nivel 1		Nivel 2		Nivel 3	
	Media	CV(%)	Media	CV(%)	Media	CV(%)
pH	7.14	0.08	7.39	0.06	7.54	0.04
pCO2 [mmHg]	64.85	1.91	40.56	1.50	24.64	1.49
pO2 [mmHg]	65.20	4.32	101.93	4.60	148.	4.58

ión calcio [mmol/L]	1.71	0.42	1.29	0.47	0.67	0.70
---------------------	------	------	------	------	------	------

ESTUDIO DE PRECISIÓN INTRASERIE

	Nivel 1		Nivel 2		Nivel 3	
	Media	CV(%)	Media	CV(%)	Media	CV(%)
pH	7.14	0.06	7.39	0.06	7.54	0.05
pCO2 [mmHg]	64.53	1.69	40.56	1.63	24.64	1.41
pO2 [mmHg]	64.15	4.23	102.36	3.44	147.30	3.77
ión calcio [mmol/L]	1.71	0.48	1.30	0.46	0.67	0.93

INTERCAMBIABILIDAD DE LOS RESULTADOS DE LAS MUESTRAS:

pH: pendiente 0.877 (0.848 – 0.911), ordenada en el origen 0.896 (0.647 – 1.109)

pCO2: pendiente 0.962 (0.932 – 0.988), ordenada en el origen 0.292 (-0.70 – 1.03)

pO2: pendiente 0.915 (0.896 – 0.934), ordenada en el origen 6.964 (5.883 – 8.058)

ión calcio: pendiente 1.175 (1.100 – 1.269), ordenada en el origen -0.208 (-0.295 – -0.130).

## Conclusiones:

– Gem Premier 3000 (IL) y Cobas b 123 (Roche) tienen un manejo muy parecido.

– Los resultados obtenidos entre Cobas b 123 y Gem Premier 3000 no son intercambiables, pero con respecto a las muestras de pacientes no se observan diferencias con trascendencia clínica.

– Existen diferencias en el control de calidad: el Gem Premier 3000 dispone de un sistema de gestión inteligente de la calidad (IQM) que verifica de manera continua el funcionamiento de todo el proceso mientras que en el Cobas b 123 se procesan los controles de calidad de forma programada.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 251**

### CRIBADO NEONATAL

*Autor/a/s:* PINA ECHEVARRIA MARIA JOSE, CIRIA TORCAL ANA MARIA, PINA ECHEVARRIA SILVIA ELENA

*Centro de trabajo:* HOSPITAL MIGUEL SERVET

*Provincia:* ZARAGOZA

*Correo electrónico del primer firmante:* mariajose20diego@yahoo.es

## Introducción:

Los programas de cribado neonatal (PCN) están reconocidos en el sistema de Salud como programas esenciales de prevención en Salud Pública. A pesar de no ser procedimientos diagnósticos su importancia radica en que detectan enfermedades neonatales que si son tratadas precozmente suponen un enorme beneficio tanto para el neonato como para su familia y para la Sociedad, repercutiendo en la salud futura del niño y en un futuro de menor coste económico a los sistemas de Salud.

## Objetivos:

Conocer y definir los programas de cribado neonatales que permitan identificar a neonatos con riesgo de padecer ciertas enfermedades. Diseñarlos de forma que tengan un coste razonable y la mayor rapidez, sensibilidad, y especificidad.

Insistir en una relación eficaz y coordinada entre el Laboratorio y pediatría, tanto en el personal TEL como en los Médicos Bioquímico Clínico y Pediatra.

## Material y Métodos:

Se aplicaron los programas de cribado neonatal a una muestra poblacional de neonatos pertenecientes a la Comunidad Aragonesa y ciertas provincias limítrofes. Las muestras se obtuvieron

por extracción única de sangre capilar al 3º día de vida sobre papel absorbente de marca específica determinándose nTSH, 17OHP4, fenilalanina y tripsinógeno inmunoreactivo

Se estudiaron 54927 niños nacidos desde el 1 de Enero de 2006 hasta el 9 de Junio de 2011, de los que se excluyeron 1038 (1,89%) por no corresponder a la edad de extracción de 0-4 días. Neonatos masculinos 28222 (52,37%) y Neonatos femeninos 25667 (47,63%).

## Resultados:

Se encontraron 27 pacientes con patología tiroidea de la que se dispuso en el laboratorio por ser de tratamiento inminente y tener que avisar a Pediatría. Las otras patologías encontradas las desconocemos por pertenecer ya al ámbito pediátrico tanto en su tratamiento como en su evolución, pero su frecuencia estadística coincidía con la descrita en la literatura.

## Conclusiones:

Hay que insistir constantemente en la correcta extracción de la muestra, tanto en lo físico de soporte para extracción como y principalmente que dicha extracción se haga a los 2-3 días de nacimiento porque de ahí provienen muchos falsos positivos.

El cribado neonatal es imprescindible en Patología tiroidea porque su tratamiento eficaz solo se puede realizar la primera semana, dando el mismo, excelentes resultados.

En Hiperplasia suprarrenal, fenilcetonuria y fibrosis quística se dispone de mayor espacio de tiempo para su solución y se puede conseguir una reducción significativa de la morbilidad, mortalidad o discapacidades asociadas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 253

### SEDIMENTO URINARIO EN EL LABORATORIO DE NEFROLOGÍA

*Autor/a/s:* Manuela Reymundo Cuesta, Begoña García Velilla, Pilar Hernández Marcos, Rosa Jiménez Rubio, María Jesús Ortega Martínez

*Centro de trabajo:* Laboratorio de Nefrología HOSPITAL RAMÓN Y CAJAL

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* reymond\_3@hotmail.com

#### Introducción:

El informe del sedimento urinario visto en microscopio es fundamental en nefrología y así es considerado en nuestro laboratorio donde le dedicamos muchas horas tanto al examen entre porta y cubre como al recuento cuantitativo. El OBJETIVO de este trabajo es analizar lo que vemos y su relación con los diagnósticos indicados por el médico.

#### Material y Métodos:

Se han recogido los datos de 210 sedimentos consecutivos con recuento de Addis (2 tubos con graduación y 10 mL de orina bien mezclada se centrifuga a 430g durante 10 minutos a 15°C y se colocan en gradillas sobre paquetes de conservación congelados en una bandeja. Un tubo se decanta para sedimento y al otro se le retiran 9 mL de sobrenadante con bomba de vacío para recuento en cámara de Neubauer. Se examina primero el sedimento en fresco y a continuación se realiza el recuento: Cilindros en 0.9 mm<sup>3</sup> y Hematíes y Leucocitos en 0.1 mm<sup>3</sup>. Los resultados se expresan como elemento eliminado por minuto). Los microscopios son SM-LUX. Las muestras se han clasificado según el diagnóstico de la petición: hipertensión arterial (HTA), insuficiencia renal (IR), trasplante renal (TR), síndrome nefrótico (SN), glomerulonefritis (GN), vasculitis (VASC) y lupus eritematoso sistémico (LES), descartando aquellos con n<8 (42 casos) y tanto el global como los grupos se han registrado en Excel (Microsoft) y se han analizado con la estadística de este. Creatinina y proteinuria en Unicell DxC800 Beckman.

#### Resultados:

En la tabla se muestran los resultados por grupos y el total

DIAGNÓSTICO		HTA	IR	TR	SN	GN	VASC.	LES	TODOS
	n	12	49	8	22	17	20	39	210
FG-EPI mg/mL 1.73 m <sup>2</sup>	promedio	61	26	20	85	73	34	80	54
	mediana	30	14	12	32	34	26	34	45
	máximo	104	57	37	132	123	108	130	132
	mínimo	20	5	5	24	18	9	5	5
PROTEÍNASo mg / g Cr	promedio	1628	1923	1996	2448	2441	1771	676	1501
	mediana	236	891	1625	2482	1826	1141	247	583
	máximo	11456	13687	6706	7949	7439	5536	5873	13687
	mínimo	0	0	352	33	100	186	0	0
CILINDROS C / minuto	promedio	37	242	435	341	243	568	270	280
	mediana	0	0	383	0	144	478	116	0
	máximo	440	1807	1156	1528	824	1480	1720	1807
	mínimo	0	0	0	0	0	0	0	0
HEMATÍES H / minuto	promedio	4154	75468	749878	227799	25258	23590	36181	71470
	mediana	1670	6480	38850	7410	8320	24195	8760	6240
	máximo	16700	1003400	5712000	150000	241600	83200	459000	5712000
	mínimo	0	0	2520	520	0	1560	0	0
LEUCOCITOS L / minuto	promedio	4451	15216	15581	2036	2580	12923	10443	20704
	mediana	1670	4160	8656	488	1340	5300	3600	3360
	máximo	26000	128960	59506	31300	12080	150300	100000	2000000
	mínimo	0	0	3540	70	0	1040	0	0

#### Conclusiones:

a) En todos los grupos hay pacientes con IR y en el grupo IR hay pacientes aún sin clasificar. b) En todos hay pacientes con cilindros y con hematíes y con leucocitos, siendo las medianas menores que los promedios, lo que indica resultados asimétricos, con una mayor fuerza de los resultados menores. c) En las peticiones no se indica la situación actual del paciente luego es solo el médico quien puede interpretar estos resultados llenos de patología y a veces normales en enfermos tratados y en remisión.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 254

### REPRODUCIBILIDAD ANALÍTICA EN EL TIEMPO PARA SUJETOS SANOS

*Autor/a/s:* María Jesús Ortega Martínez, Begoña García Velilla, Pilar Hernández Marcos, Rosa Jiménez Rubio, Manuela Reymundo Cuesta.

*Centro de trabajo:* Laboratorio de Nefrología HOSPITAL RAMÓN Y CAJAL

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* jose.a.angulo@telefonica.net

#### Introducción:

Las sociedades científicas publican resultados de variación biológica, de errores máximos permitidos y de especificaciones recomendables y mínimas para gran cantidad de parámetros. En nuestro laboratorio nos sometemos a controles externos de la SEQC y de BIORAD y control interno de Beckman desde hace muchos años, con resultados que oscilan entre satisfactorios y como mínimo aceptables. Con frecuencia preparamos curvas de los distintos productos químicos para comprobar linealidad y también exactitud de los analitos, así como para comparar el comportamiento de distintos aparatos. También comparamos los resultados de pacientes en los distintos aparatos y se aplican métodos estadísticos. Los valores de referencia se han obtenido de sujetos sanos, pero no es habitual que estos se realicen analíticas periódicamente en nuestro laboratorio. El OBJETIVO de este trabajo es analizar los resultados en el tiempo para un mismo sujeto sano, al menos sin problemas renales, como exponente de nuestra variabilidad global y como aportación a los estudios de variación biológica.

#### Material y Métodos:

Se han seleccionado en la base de datos del laboratorio (x-Lab Isoft) los resultados obtenidos en 2 mujeres sanas Mujer1(n=42) entre los años 1998 y 2010 (edad 51-63). Mujer2 (n=10) entre los años 2001 y 2008 (edad 81-88). Los resultados se han obtenido en Cx7, Cx9-PRO y Unicell DxC800 (Beckman) correlativamente, según han sido sustituidos uno por otro. Los datos se han recogido en Excel (Microsoft) y se ha utilizado la estadística de este.

#### RESULTADOS:

SEQC		CRE	URE	Na	K	CL	CO2 T	GLU	URIC	PROT	CA	FOSF	MG
COEF. V. INDIVIDUAL		4.3	12.3	0.7	4.8	1.2	4.8	4.9	8.6	2.7	1.9	8.5	18.3
COEF. V. GENERAL		12.7	18.3	1	5.6	1.5	5.3	7.7	17.2	4	2.8	9.4	16.4
especificaciones descables	Cva	2.2	6.2	0.4	2.4	0.6	2.4	2.5	4.3	1.4	1	4.3	9.2
	Esa	3.4	5.5	0.3	1.8	0.5	1.8	2.3	4.8	1.2	0.8	3.2	6.3
	Eta	6.9	15.7	0.9	5.8	1.5	5.7	6.3	11.9	3.4	2.4	10.2	21.2
especificaciones mínimas	Cva	3.2	0.5	3.6	0.9	3.6				2	1.4		
	Esa	5.9	0.5	2.8	0.7	2.7				1.8	1.3		
	Eta	10.4	1.3	8.7	2.2	8.6				5.2	3.6		
resultados MUJER 1	promedio	0.76	29.21	142.59	4.08	107.72	28.52	91.95	4.55	7.04	9.01	3.48	2.15
	DS	0.07	4.46	1.36	0.29	2.45	1.46	4.89	0.41	0.30	0.24	0.37	0.20
	mediana	0.76	29.06	142.59	4.07	108.2	28.76	92.04	4.66	7.09	9.04	3.48	2.22
	n	42	42	42	42	42	42	42	42	42	42	42	42
	CV	8.74	15.26	0.96	7.04	2.27	5.11	5.32	8.91	4.24	2.63	10.06	9.18
resultados MUJER 2	promedio	0.81	35.10	144.14	4.28	105.87	32.35	96.54	3.22	6.98	8.93	3.10	2.45
	DS	0.05	3.74	0.78	0.21	2.36	1.55	4.23	0.35	0.30	0.15	0.31	0.13
	mediana	0.82	36.00	144.05	4.28	106.45	32.10	96.54	3.20	7.08	8.94	3.13	2.44
	n	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	CV	5.78	10.55	0.54	4.80	2.23	4.92	4.35	11.01	4.32	2.13	10.06	5.39

#### Conclusiones:

a) A pesar de los años transcurridos, de los cambios de aparatos y de la estandarización de la creatinina, los resultados entran siempre dentro de las especificaciones mínimas, a veces en las óptimas para la mujer1 y siempre en las óptimas para la mujer2. b) Nuestro laboratorio trabaja con una buena reproducibilidad a lo largo del tiempo. c) Sodio, Potasio y Magnesio dan resultados dentro del CV individual especificado por la SEQC.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 258

### LA PREVENCIÓN EN LA SALUD MATERNO FETAL. CRIBADO GESTACIONAL, CONCEPTO

*Autor/a/s:* CIRIA TORCAL ANA MARIA, PINA ECHEVARRIA MARIA JOSE, ARANDA SAN BERNARDINO MARIA ANGELES.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL MIGUEL SERVET

*Provincia:* ZARAGOZA

*Correo electrónico del primer firmante:* anaciriatorcal@hotmail.com

#### Introducción:

En un campo tan importante como es la prevención aplicada a la salud materno fetal, existen hoy día programas que nos están permitiendo conocimientos sobre este campo mucho mas amplios, que nos inician a la vez hacia un camino para su perfeccionamiento despertándonos la inquietud de nuevos conocimientos. Conforme nos adentramos en su estudio se descubren día a día nuevos y prometedores campos de investigación sobre el tema.

#### Objetivos:

Conocer y definir, qué es un cribado tanto en lo referido a la salud materna (gestacional) como en la atención a la salud fetal (neonatal). Un posterior objetivo será :

\* Realizar una acción preventiva para la Patología que pueda presentarse

\* Ampliar la investigación sobre dicha alteración específica.

## Material y Métodos:

En el tiempo de 2 años y en colaboración con el Médico Bioquímico Clínico hemos hecho revisiones de salud materna a 1495 gestantes atendiendo a

I. Infecciones de transmisión perinatal.

II. Diabetes Gestacional.

III. Cribado gestacional de 1º trimestre con sus marcadores correspondientes que se han determinado en nuestro laboratorio.

PAPPA (Proteína plasmática asociada al embarazo y de b HCG libre b (fracción libre de la Coriogonadotropina). Y Marcadores de 2º trimestre (b HCG total, a feto proteína, Estriol libre, Inhibinas

Eritroblastos fetales en sangre materna)

Estos datos combinados con los proporcionados por el ginecólogo con la realización de ecografías TN (Translucencia Nucal y CRL (Longitud Craneo Caudal) nos han permitido conocer el riesgo de aneuploidias gestacionales.

## Resultados:

Se detectaron 5 aneuploidias

## Conclusiones:

En la actualidad se dispone de varios métodos de cribado (screening) que nos permiten diagnosticar y conocer mejor los riesgos fetales de anomalías cromosómicas.

Siempre debe existir comunicación exhaustiva de los resultados obtenidos con el Médico responsable y éste con el ginecólogo.

Existen varias formas de realizar los cribados en función de la posibilidad de los parámetros que se puedan Determinar.

No debemos olvidar que día a día se amplían conocimientos de otros factores placentarios que pueden ser útiles en un futuro próximo (ADAM12)

Los cribados son un medio excelente para evitar técnicas invasivas de diagnóstico con cierto peligro para la vida fetal

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 259**

## ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE LA DETERMINACION DE LACTATO EN PLASMA Y SANGRE TOTALO

*Autor/a/s:* Rodríguez Rodríguez, Inmaculada; Moreno Ricas, Concepción; Lujan García, María Isabel; Martín Méndez, Ana Isabel; Rodelgo Jiménez, Laura; Gómez-Serranillos Reus, Manuel.

*Centro de trabajo:* Hospital Virgen de la Salud

*Provincia:* TOLEDO

*Correo electrónico del primer firmante:* inrora31@hotmail.com

## Introducción:

El ácido láctico es un producto intermedio del metabolismo, principalmente del ciclo de los carbohidratos y deriva principalmente de las células musculares.

Se puede realizar un examen para medir la cantidad de ácido láctico en la sangre. Los resultados anormales son indicativos de falta de oxígeno en los tejidos corporales.

Las afecciones que pueden incrementar los niveles de ácido láctico abarcan: insuficiencia cardíaca, problemas hepáticos, enfermedad pulmonar, insuficiencia en la cantidad de sangre oxigenada que llega a cierta área del cuerpo, infección grave que afecta a todo el cuerpo (sepsis) y muy bajos niveles de oxígeno en la sangre.

Su determinación en la UVI sirve principalmente para monitorizar infecciones graves (sepsis) mandando al servicio de bioquímica dos tipos de muestras: plasma heparinizado para analizar en (Vitros 5600 Johnson and Johnson) y sangre total (Gasómetro GEM Premier).

## Objetivos:

Evaluar la determinación de lactato por dos métodos de análisis diferentes. Para ello, se estudia la correlación de los resultados obtenidos mediante un modelo estadístico de regresión lineal.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

El periodo de estudio es de un año; se determina el lactato en sangre total y plasma de un total de 245 pacientes de UVI (141 arteriales y 104 venosas). Los resultados obtenidos fueron tratados mediante el método de regresión lineal no paramétrico de Passing-Bablok y el cálculo del coeficiente de correlación de Pearson, utilizando el programa estadístico MedCalc. Las muestras de plasma fueron procesadas por el analizador Vitros 5600 de Johnson and Johnson y las muestras de sangre total por el Gasómetro GEM Premier 3000 de IZASA.

## RESULTADOS:

Los coeficientes de correlación obtenidos fueron 0,9554 ( $p < 0,0001$ ; 95% IC 0,9349 a

0,9696) para sangre venosa y 0,9945 ( $p < 0,0001$ ; 95% IC 0,9923 a 0,9961) para sangre arterial.

Con el método de regresión lineal no paramétrico de Passing-Bablok, para la comparación de la determinación de lactato en sangre venosa se obtuvo una ecuación de la recta  $y = -0,2000 + 1,0000x$  para la cual el intervalo de confianza del 95% la pendiente era  $-1,2112$  a  $0,6860$  y el intervalo de confianza del 95% la ordenada en el origen era  $0,9302$  a  $1,0830$ .

y para la comparación de la determinación de lactato en sangre arterial se obtuvo una ecuación de la recta  $y = 0,2258 + 0,9677x$  para la cual el intervalo de confianza del 95% la pendiente era  $-0,2000$  a  $0,5928$  y el intervalo de confianza del 95% la ordenada en el origen era  $0,9446$  a  $1,0000$ .

## CONCLUSIÓN:

El análisis de los datos obtenidos concluyó que existe una alta correlación entre los resultados obtenidos en ambos analizadores, por lo que son métodos que pueden considerarse intercambiables.

Con nuestro estudio, se demuestra que es factible la monitorización del lactato en gasometría. Debido a que la extracción de gasometría es una práctica diaria que se realiza a los enfermos de UVI. Supone un coste económico menor, al no realizarse una nueva extracción y evitar al paciente un nuevo pinchazo.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 262**

## ESTUDIO DE LA DEMANDA DE TÓXICOS EN ORINA EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS

*Autor/a/s:* MERCEDES ULLOA GUTIÉRREZ

*Centro de trabajo:* Complejo Hospitalario Universitario A Coruña (CHUAC)

*Provincia:* A Coruña

*Correo electrónico del primer firmante:* mercedes.ulloa.gutierrez@sergas.es

## Introducción:

En el servicio de Urgencias las intoxicaciones agudas generan gran demanda asistencial por lo que la solicitud de tóxicos en orina ha aumentado de forma significativa en los últimos años, siendo de gran utilidad el empleo de test multidroga que permiten una detección cualitativa de las sustancias de abuso de consumo más frecuente. Una de sus principales ventajas es el análisis simultáneo de distintos tóxicos y la rapidez del resultado, algo fundamental en el manejo del paciente intoxicado.

## Objetivo:

se realizó un estudio retrospectivo del test de drogas de abuso en orina para evaluar la demanda, los demográficos y las drogas positivas según sexo y edad.

## Material y Métodos:

se hizo una búsqueda retrospectiva del año 2011 a través del SIL del CHUAC de peticiones con drogas de abuso en orina. Para analizar las drogas de abuso en orina primero se centrifugaron las orinas (10cc) durante 5 minutos a 1500 rpm y luego se analizaron mediante fluoroinmunoanálisis competitivo (Triage Meter Plus, Biosite). Con esta técnica se cuantifican cualitativa y simultáneamente once drogas, dando resultados positivos o negativos. Las drogas determinadas y sus puntos de corte son: Paracetamol (5 µg/mL), Anfetaminas (1000 µg/mL), Metanfetaminas (1000 µg/mL), Barbitúricos (300 µg/mL), Benzodiazepinas (300 µg/mL), Cocaína (300 µg/mL), Metadona (300 µg/mL), Opiáceos (300 µg/mL), Fenciclidina (25 µg/mL), Tetrahidrocannabinol (50 µg/mL), Antidepresivos Tricíclicos (1000 µg/mL). Se estratificaron las peticiones según sexo y edad. Los grupos de edad fueron: <20 años, 21-45 años, 46-65 años, >65 años. Para la evaluación de los datos se utilizó el programa Microsoft Excel.

## Resultados:

Se analizaron un total de 2530 orinas, cuantificando en cada una las once drogas anteriormente enumeradas. El 68% de todas las peticiones tenían al menos una droga positiva. El % de drogas positivas del total de positivos, de mayor a menor fue: Benzodiazepinas (50%), Tetrahidrocannabinol (17%), Acetaminofeno (10%), Opiáceos (7%), Metadona y cocaína (6%), resto (<5%).

El 57% de las peticiones correspondieron a hombres y el 43% a mujeres. El 65% de los hombres tenían alguna droga positiva y el 72% de las mujeres. En hombres el % de positivos para cada droga son, de mayor a menor: Benzodiazepinas (41%), Tetrahidrocannabinol (24%), Acetaminofeno (9%), Opiáceos y Metadona (8%), Cocaína (7%), resto (<5%). Para mujeres: Benzodiazepinas (61%), Acetaminofeno (11%), Tetrahidrocannabinol (9%), Opiáceos (7%), resto (<5%).

Para los grupos de edades el % de peticiones con alguna droga positiva fue: "<20 años" = 42%, "21-45 años" = 70%, "46-65" = 70%, ">65" = 74%. Para el grupo "<20 años" las drogas positivas fueron, de mayor a menor: Benzodiazepinas (38%), Tetrahidrocannabinol (23%), Acetaminofeno (21%), Metadona (6%), resto (<5%). Para el grupo "20-45 años": Benzodiazepinas (44%), Tetrahidrocannabinol (24%), Cocaína (9%), Acetaminofeno y Metadona (7%), Opiáceos (5%), resto (<5%). Para el grupo "46-65 años", las drogas positivas

fueron, de mayor a menor: Benzodiazepinas (62%), Acetaminofeno (10%), Opiáceos(8%), Tetrahidrocannabinol(7%), Metadona (6%), Antidepresivos Tricíclicos(5%), resto (<5%). Para el grupo ">65 años", las drogas positivas fueron, de mayor a menor: Benzodiazepinas (60%), Opiáceos(18%), Acetaminofeno (16%), Antidepresivos Tricíclicos(5%), resto (<5%).

### Conclusión:

el test de triage de drogas de abuso en orina es una prueba frecuentemente demandada en el laboratorio de Urgencias de A Coruña. Durante el año 2011 se realizaron 2530 peticiones de las cuales, el 68% tenían alguna droga positiva. El número de peticiones para hombres fue ligeramente mayor que para mujeres (57% vs 43%), mientras que el número de positivos en hombres fue menor (65% vs 72%). Dentro de los grupos de edad el que menor tasa de positivos tenía era el de "<20 años" (42%), frente al resto que tenía una positividad media del 71% .

La droga más consumida para el total de peticiones son las benzodiazepinas (50%), siendo más consumida por las mujeres (60%) y por pacientes mayores de 45 años (60%).

La segunda droga más consumida fue el Tetrahidrocannabinol (17%), más consumida por hombres (24%) que mujeres (9%), siendo el grupo de edad con más positivos el de "20-45 años".

La tercera droga más consumida es el Acetaminofeno (10%), no habiendo diferencia significativa entre hombres y mujeres, siendo el grupo de edad con más positivos el de "20-45 años".

Conocer los demográficos de los pacientes cribados para test de drogas de abuso en orina es importante para una mejor comprensión de los resultados obtenidos y la valoración de posibles falsos positivos.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 266**

### VALORES DE REFERENCIA DE VITAMINA B12 EN GESTANTES. ¿EXISTE DEFICIENCIA?

*Autor/a/s:* CIRIA TORCAL ANA MARIA, FERNANDEZ PASCUAL PURIFICACION, SANADO MORENO, AINARA.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL MIGUEL SERVET

*Provincia:* ZARAGOZA

*Correo electrónico del primer firmante:* anaciriatorcal@hotmail.com

### Introducción:

La vitamina B12 o cianocobalamina es un complejo hexacoordinado de cobalto. Las funciones de la vitamina B12 están relacionadas con la síntesis de metionina y timidina en la duplicación del ADN y con la síntesis de acetil CoA para la mielinización del Sistema Nervioso Central. Si hay un déficit de B12, se verá afectada la síntesis de ADN, por defecto en la producción de purinas y pirimidinas, (moléculas nitrogenadas que forma parte de las bases de los nucleótidos), y por lo tanto se darán defectos en la duplicación celular.

La deficiencia de vitamina B12 pueden multiplicar por cinco el riesgo de defectos del tubo neural (DTN).

Como los episodios clave de la formación del cerebro y la médula espinal se producen en los primeros 28 días posteriores a la concepción, antes de que muchas mujeres sean conscientes de su embarazo, es necesario insistir en la prevención de carencias de esta vitamina en todas las mujeres en edad fértil.

### Objetivos:

Determinar los valores de vitamina B12 en gestantes y el posible porcentaje carencial si lo hubiera. A su vez comparar los valores encontrados con los hallados en la población no gestante con las mismas características.

### Material y Métodos:

Se parte de 139 gestantes en edad comprendida entre 17-47 años, y una muestra comparativa de 2065 mujeres no gestantes con las mismas características.

La determinación de vitamina B12 se realiza por un ensayo inmunoenzimático competitivo en el que una muestra de vitamina B12 reacciona con cianato de potasio y ditiotreitól desproteinizándose y quedando en forma de cianocobalamina. Posteriormente reacciona con fosfatasa alcalina y partículas paramagnéticas revestidas con 2 tipos de anticuerpos, con incubación y separación posterior del libre y ligado. La lectura se realiza por quimioluminiscencia.

### Resultados:

Rango de referencia para gestantes 76-463 pg/ml. En el rango de referencia para la población no gestante los valores superiores encontrados son de 1540pg/ml. Son mucho más altos que los del rango superior en gestaciones. A pesar de ello encontramos en la población para comparativa, un caso grave de déficit de vitamina B12 (4pg/ml) El porcentaje de déficit encontrado en la población gestante es de un 34,53% y en la población no gestante es de 11,09%.

### Conclusiones:

Existe mayor porcentaje deficitario de vitamina B12 en gestantes que en la población comparativa de mujeres en edad fértil.

Se sigue observando carencias de esta vitamina en población femenina fértil.

Por la patología neonatal en la que influye ésta carencia deberá atenderse con mayor precisión a una prevención fácil de realizar y asumible con una dieta correcta.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 273**

### EVALUACIÓN INICIAL COSTE/EFFECTIVA PARA EL DIAGNÓSTICO DE SEPSIS

*Autor/a/s:* Sampayo Novoa, Paula; Canedo Gómez, Ángeles; Álvarez Aller, Julia

*Centro de trabajo:* Complejo Hospitalario Universitario A Coruña

*Provincia:* A coruña

*Correo electrónico del primer firmante:* Paula.Sampayo.Novoa@sergas.es

### Introducción:

La sepsis es una entidad patológica caracterizada por la presencia de Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica y la certeza de infección bacteriana. Es una enfermedad emergente con una mortalidad que persiste elevada, a pesar de los avances en las técnicas de apoyo vital y la aparición de nuevos tratamientos. La ausencia de pruebas diagnósticas suficientemente sensibles y específicas, junto con la limitación de las capacidades clínicas para efectuar un diagnóstico precoz puede influir negativamente en la morbimortalidad de este proceso.

Es aceptado que el mejor biomarcador para el diagnóstico de sepsis es la Procalcitonina (PCT) debido a su aceptable sensibilidad y buena especificidad. No obstante, el alto coste por determinación de la PCT hace que en nuestro Hospital sea una prueba restringida a determinados servicios (UCI y REA). La Proteína C Reactiva (PCR) es un biomarcador reactante de fase aguda bastante sensible también para el diagnóstico de sepsis, sin embargo tiene muy baja especificidad ya que se eleva por cualquier proceso inflamatorio. La PCR es una prueba mucho más barata. Por ello surge la necesidad de encontrar un algoritmo diagnóstico de sepsis que abarate los costes para poder ampliar la cartera del laboratorio para el diagnóstico de sepsis a otros servicios sin perder con ello efectividad clínica.

### Objetivo:

evaluación preliminar de un estudio coste/efectivo para un algoritmo diagnóstico de sepsis en el que la PCR sería la prueba de primera elección seguido de una PCT en el caso de que la PCR sea positiva.

### Material y Métodos:

se hizo un estudio retrospectivo a través del SIL para encontrar las peticiones de laboratorio que tuvieran PCT y PCR pedidas a la vez durante 1 mes. Se seleccionaron las peticiones de pacientes que correspondiesen a la primera petición relacionada con sepsis de ese paciente, obteniéndose una población n=136. Se estudio para cada petición la positividad de ambas pruebas. Para ello se eligió un punto de corte para PCT = 2 ng/mL y para la PCR = 1 ng/mL. Se calculó la probabilidad de que una PCT sea positiva P(PCT+), la probabilidad de que una PCR sea positiva P(PCR+)y la probabilidad de que si una PCR es positiva también lo sea la PCT P(PCT+|PCR+). A continuación, se compararon dos algoritmos diagnósticos "A" y "B" para una población supuesta de 100 pacientes y cuyo objetivo final es encontrar PCT positivas. En el algoritmo "A" (el que ya está implantado en el Hospital) se les hacía sólo PCT y en el "B" se les hacía PCR y si ésta era positiva se cuantificaba la PCT. Finalmente se hace un estudio coste/efectividad (en base a las probabilidades previamente calculadas) calculando el coste de cada algoritmo para encontrar una PCT positiva. Como coste unitarios de cada prueba se utilizan valores relativos, siendo el de la PCT 4 veces más caro que el de la PCR, por ello asignamos al "coste unitario PCR" = 1 y "coste unitario PCT"=4.

### Resultados:

En 136 pacientes se encontraron 38 PCT positivas y 103 PCR positivas, siendo P(PCT+)=0,28 y P(PCR+)=0,76. En las 103 PCR positivas se encontraron 35 PCT positivas siendo P(PCT+|PCR+)=0,34. En base a estas probabilidades, para una población supuesta de 100 pacientes se desarrollan los dos algoritmos:

- Algoritmo A (sólo PCT): se hacen 100 PCT siendo 28 PCT positivas . El coste total será del precio unitario de PCT multiplicado por 100 determinaciones: "coste total A" = 1x100=100. El coste para encontrar una PCT positiva será el "coste total A" dividido entre el número de PCT positivas en el algoritmo A (28): coste A (PCT +) = (coste total A)/28= 100/28 = 3.6
- Algoritmo B (PCR y si + se hace PCT): se hacen 100 PCR siendo 76 positivas. Posteriormente a estas 76 PCR positivas se cuantifica la PCT, encontrando 26 PCT positivas. El "coste total B" = (precio unitario PCR x 100) + (precio unitario PCT x 76) = 1x100 + 4x76=404. El coste para encontrar una PCT + será el "coste total B" entre el número de PCT positivas encontradas en el algoritmo B (26): coste B (PCT+)= (coste total B)/26= 404/26=15

## Discusión:

El algoritmo B propuesto es menos coste/efectivo que el algoritmo A ya implantado ya que es más costoso (15 vs 3,6) para identificar una PCT positiva. Además se perderían el 3% de PCT positivas. Esto es debido a la baja especificidad de la PCR para sepsis, lo cual motiva que la mayoría de PCR que están elevadas no sean debido a sepsis y por ello hay menos probabilidad de que a continuación se obtenga una PCT positiva.

Esto hace, en un principio, desestimar el uso de la PCR para cribado inicial de sepsis frente al ya realizado con PCT. Una posible solución sería diseñar otro estudio en el que subamos el punto de corte de PCR para que sea más específica, aunque también será menos sensible, y por tanto se perderán más pacientes con PCT positivas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 281

### ESTABILIDAD DE LA MUESTRA EN LA DETERMINACION DE COOXIMETRIA

*Autor/a/s:* LACARRA GARCÍA, NATALIA ; GLARIA CORTÉS, MARÍA ISABEL ; PELLICER GRACIA, MARÍA ÁNGELES, GONZALEZ MACHO, M<sup>a</sup> PURIFICACION.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL ROYO VILLANOVA

*Provincia:* ZARAGOZA

*Correo electrónico del primer firmante:* natuchina@hotmail.com

### Introducción:

La cooximetría es un método cuantitativo que emplea la espectrofotometría (medición de la absorción de luz) para medir la concentración de hemoglobina y de diversas especies de hemoglobina.

Los derivados de la hemoglobina son:

Oxihemoglobina (O2Hb): porcentaje de hemoglobina con fe+2 unido al oxígeno de forma reversible con respecto a la hemoglobina total. Valores normales en adulto sano: arterial : 94-97% venosa : 40-75%

Deoxihemoglobina (HHb): es la hemoglobina que se ha desprendido del oxígeno y está lista para obtener más. Valores normales en adulto sano: arterial : < 5% y más elevados en sangre venosa.

Carboxihemoglobina : (COHb): es la unión del monóxido de carbono a la hemoglobina y la hace incapaz de transportar oxígeno. valores normales: <2%, pudiendo aumentar hasta el 8% en fumadores. Entre el 15-25% se asocia a fatiga, cefalea, náuseas pudiéndose producir convulsiones y muerte alcanzando valores del 50%.

Metahemoglobina: (Met Hb): El átomo de hierro presente en el grupo hemo de la hemoglobina se oxida, de ferroso a férrico por la acción de componentes nitrogenados de la dieta (pediatría) o agentes tóxicos como fármacos, anestésicos locales o agentes industriales. Valores normales: < 1,5%. el paciente puede estar asintomático en valores inferiores al 15% y por encima del 60% confusión, convulsión y muerte.

### Objetivos:

Ver la evolución que sufren las distintas fracciones de la hemoglobina con el paso del tiempo, conservando las muestras en refrigerado y procesándolas a la recepción, a los 60, 120 y 180 minutos.

### MATERIAL:

- Analizador IL GEM Premier 4000 de IZASA
- Cartucho de sensores y reactivos para uso del analizador IL GEM Premier 4000 de IZASA
- Controles de cooximetría
- Gasometrías procedentes de laboratorio de urgencias, de pacientes hospitalizados y pacientes de consultas externas.

### MÉTODO:

La cooximetría es un método analítico en el cual la luz se hace pasar a través de un material que la absorbe parcialmente.

El cooxímetro es un espectrofotómetro de múltiples longitudes de onda que pueden medir con exactitud varias especies de hemoglobina en la sangre. se requiere una longitud de onda específica para cada especie de hemoglobina que se determine basándose en la ley de Lambert-Beer.

Como primer paso en la oximetría es necesaria la hemólisis que destruye la membrana de los glóbulos rojos porque las membranas celulares son bastantes opacas y hacen que la luz rebote ( dispersión de la luz) en lugar de atravesarlas .

Hay 2 métodos frecuentes de hemólisis, en este caso el analizador IL GEM 4000 utiliza el método de disolución de la membrana con un liposolvente, por lo que requiere dilución y calibración de la hemoglobina total.

### RESULTADOS:

Se han procesado un determinado número de muestras de gasometrías arteriales y venosas. Cada muestra se ha procesado: a la recepción en el laboratorio, a los 60', 120' Y A LOS 180', observándose estos resultados:

O2Hb - p < 0.01 CO2Hb -p> ns Methb - p> ns HHb - p < 0.01 SO2 -p < 0.01

### Conclusiones:

Llegando a la conclusión que la CO2Hb y la MetHb ,no se degradan con el paso del tiempo, conservando los mismos niveles por lo menos hasta pasados 180 minutos desde la extracción, manteniendo la muestra en frío. ayudando esto al clínico en el diagnóstico de intoxicaciones por humo, metales, etc o procesos como tabaquismo.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 282

### COMPARACIÓN DE TRES MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN DE LAMOTRIGINA EN SANGRE

*Autor/a/s:* Nicolas de la Puente, José manuel; Gutierrez Currás, Julia; Veci Rueda, Pilar; Sierra Bustamante, Mónica.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario "Marqués de Valdecilla"

*Provincia:* Cantabria

*Correo electrónico del primer firmante:* jnicolas@humv.es

### Introducción:

La lamotrigina (LTG) es un medicamento utilizado en la epilepsia y en el trastorno bipolar; su farmacocinética compleja, y frecuentes interacciones medicamentosas hace necesaria la medición de los niveles del fármaco en sangre. La cuantificación realizada por HPLC-UV, con preparación de la muestra mediante extracción por solventes, es un método laborioso y lento. Más recientemente han surgido otras posibilidades más sencillas y rápidas, como la preparación para HPLC mediante precipitación, ó el inmunoanálisis.

### Objetivo:

Comparar las tres técnicas de cuantificación, y valorar la aceptabilidad de las nuevas técnicas para las condiciones de nuestro laboratorio (Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario "Marqués de Valdecilla").

### Material y Métodos:

Para la determinación de LTG por HPLC-UV se ha utilizado un cromatógrafo Agilent Serie1100, con un detector de diodos de longitud de onda múltiple; las muestras se prepararon mediante extracción (EXT) con etilacetato o mediante precipitación ácida (PRE). El inmunoanálisis (QMS, Microgenics Thermo Fisher Scientific) se cuantificó con el equipo CDx90. Se utilizaron 31 muestras (sueros libres de fármaco, a los que se añaden distintas cantidades de lamotrigina) procedentes del programa de calidad Health Control (Cardiff Bioanalytical Services Ltd), cuyo valor de consenso (media de los resultados obtenidos por todos los laboratorios participantes en el programa de calidad, para cada muestra) se empleó como referencia para la comparación de las medidas obtenidas con los tres métodos. El análisis estadístico (descriptivo y comparación de series) se hizo con SPSS 16.0.

### Resultados:

Las concentraciones de las muestras variaron de 0 a 21,59 mg/L. Las diferencias respecto al valor de consenso (mg/L) fueron  $-0,52 \pm 0,79$  ( $p=0,001$ ) para CDx90;  $-0,33 \pm 0,99$  (n.s.) para PRE, y de  $-0,23 \pm 0,78$  (n.s) para EXT. La variabilidad de las diferencias fue más marcada en CDx90 (mediana  $-0,31$ ; rango intercuartil 1,28), que en PRE (m  $-0,01$  r.i. 0,35) o en EXT (m  $-0,03$  r.i. 0,43). La diferencia porcentual (diferencias / valor de consenso) fueron las siguientes: CDx mediana  $-6,19\%$ , rango intercuartil 13,69%; PRE m  $-0,54\%$  r.i. 6,12%; EXT m  $-0,87\%$  r.i. 10,28%. La comparación de las medidas de las tres series entre sí no tuvieron diferencias estadísticamente significativas. La correlación con la serie de consenso para CDx-90 fue  $r2 = 0,99135822$ ; para  $r2 = 0,97794461$ ; y para EXT  $r2 = 0,98576651$ .

### Conclusiones:

Las tres técnicas analizadas presentan valores ligeramente más bajos que el valor de consenso de las muestras, sólo estadísticamente significativa para CDx90.

Aunque las tres técnicas obtuvieron valores similares, las técnicas de HPLC dan resultados más precisos y más exactos respecto al valor de consenso.

Las tres técnicas son válidas para el empleo rutinario en nuestro laboratorio.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 284

### ESTUDIO COMPARATIVO DE INSTRUMENTOS ALICUOTADORES: AQUA 7000 Y GENESSIS FE 500

*Autor/a/s:* Garcia Campos Concepción; Fraga Bello Felisa; González Rieiro Isabel; Bello Fernández Diana; Seijas Santamaria María ; Formoso Leis María

*Centro de trabajo:* Hospital Teresa Herrera

*Provincia:* A coruña

*Correo electrónico del primer firmante:* djzupo@yahoo.es

## Introducción:

Dada la importancia de la prontitud de análisis, así como los beneficios en la atención al paciente y económicos; extracción de un único tubo de suero, se utilizan instrumentos alicuotadores para la posterior distribución de las muestras a las distintas secciones del laboratorio. Estos sistemas facilitan el trabajo diario con una considerable reducción del tiempo de obtención de resultados de las determinaciones solicitadas, puesto que eliminan el trabajo manual.

## Objetivo:

El propósito del estudio es demostrar la mayor eficiencia de un alicuotador conectado a un sistema de automatización de laboratorio (LABCELL-SIEMENS) de otro alicuotador no conectado.

## Material y Métodos:

Los técnicos de laboratorio de la sección de preanalítica del "Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña" durante el mes de Febrero del 2012 han medido los tiempos de trabajo: los tiempos del operario, los tiempos del sistema de automatización del laboratorio en del Aqua 7000 de Siemens conectado a LABCELL y el GENESIS FE 500 de Tecan no conectado al LABCELL.

## Resultados obtenidos:

	AQUA 7000	GENESIS FE 500
Coste fijo por minutos de operario a la semana	360 minuto 0,2 minuto/muestra	840 minuto 0,4 minuto/muestra
Tiempo empleado por el LABCELL	8,4 segundos/muestra	16,8 segundos/muestra

## Discusión:

Nuestros resultados muestran que es más efectivo el alicuotador conectado al LABCELL ya que procesa más tubos en menos tiempo y se reduce el tiempo del operario.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 286**

### UTILIDAD DIAGNÓSTICA DEL ESTUDIO DE LOS HEMATÍES DISMÓRFICOS EN ORINA

*Autor/a/s:* RAMOS FELEZ ESTER, LÓPEZ GARCÍA CONSUELO, CARDONA FARRIOL JESSICA, PEREZ NIEVES ELISABET, ALBA MACÍAS YOLANDA, FUSTER PEREZ EVA MARIA, DOLADE BOTIAS MARIA, PASTOR FERRER MARI CRUZ

*Centro de trabajo:* HUGTIP

*Provincia:* BARCELONA

*Correo electrónico del primer firmante:* esterfelez021170@yahoo.e

## Introducción:

Los hematíes dismórficos son hematíes que han sufrido múltiples agresiones mecánicas y físicas al atravesar la membrana glomerular dañada y por ello presentan alteraciones morfológicas características. Su presencia en orina es sugestiva de patología renal glomerular y es posible su identificación en el sedimento urinario mediante microscopía de contraste de fases. Asimismo es importante diferenciar estos hematíes de los que presentan morfología normal, isomórficos, su presencia en orina tiene en la mayoría de ocasiones un origen no glomerular.

El laboratorio juega un papel fundamental en el diagnóstico diferencial del origen de la hematuria contribuyendo a mejorar y simplificar el proceso diagnóstico de este tipo de patologías.

## OBJETIVO:

Correlacionar los resultados de dismorfia e isomorfia de los hematíes observados en el sedimento urinario, con el diagnóstico clínico de estos pacientes, con el fin de comprobar la validez y eficiencia de este método para diferenciar el origen de la hematuria así como su correlación con los valores de proteinuria.

## Material y Métodos:

Se han revisado 140 orinas recibidas en nuestro laboratorio para el estudio de la morfología eritrocitaria.

Se centrifugó una alícuota de 10 ml de orina fresca en un tubo cónico a 1500 rpm durante 3 minutos.

Una vez centrifugada la orina, se decantó el sobrenadante y se resuspendió el botón por agitación suave y 20 uL se dispusieron entre porta y cubre.

Se observó la muestra en contraste de fases a 400 aumentos en el microscopio Nikon Eclipse E200.

En las muestras con presencia de > 2 hematíes por campo se investigó la presencia de hematíes dimórficos. Se consideró dismorfia la presencia de hematíes anulares, polidiverticulares, espiculados, vacíos y los mixtos de los anteriores. Se consideró como

isomorfia la presencia de hematíes con morfología normal y hematíes con alteraciones morfológicas inespecíficas: hematíes estrellados, septados, monodiverticulares y fantasmas.

Se determinó la proteinuria mediante tiras reactivas en el analizador automático clinitek Atlas de Siemens.

## RESULTADOS:

De los 140 casos revisados, 102 correspondían a pacientes con patología nefrológica y 38 a pacientes con patología urológica.

De los 102 pacientes con nefropatía, 92 (90,1%) presentaron hematíes dismórficos y 10 (9,9%) isomórficos.

De los 38 pacientes urológicos, 34 (89,4%) presentaron isomorfia y en solo 4 (10,53%) se observó dismorfia.

Los resultados de validez y seguridad del método fueron: Sensibilidad=90,1%, Especificidad=89,4%, Valor Predictivo Positivo=95,8% y Valor Predictivo Negativo=77,2%.

La proteinuria fue > 1 g/L en 55 (53,92%) pacientes con nefropatía y en 13 (34,21%) pacientes con patología urológica.

## Conclusiones:

Los resultados demuestran que se trata de un método sencillo, eficiente y de bajo coste para diferenciar el origen de las hematurias.

Queremos destacar la importancia de la formación del personal técnico y la de establecer criterios claros para el diagnóstico de las alteraciones morfológicas específicas de los hematíes que indiquen origen glomerular, con ello mejoraremos la validez y seguridad del método.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 289**

### EFFECTO DE LA CAPACITACIÓN ESPERMÁTICA SOBRE LA TERATOZOOSPERMIA

*Autor/a/s:* LÓPEZ GARCÍA CONSUELO, RAMOS FELEZ ESTER, CARDONA FARRIOL JESSICA, PÉREZ NIEVES ELISABET, LÓPEZ GÓMEZ MARÍA, VILASECA GASAU TERESA, GALÁN ORTEGA AMPARO.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Germans Trias i Pujol

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* jache08@hotmail.com

## INTRODUCCIÓN

\*Una de las posibles causas de la esterilidad masculina son las alteraciones morfológicas de los espermatozoides, íntimamente relacionadas con el fracaso de la fecundación.

\*Algunos investigadores consideran que la morfología es el principal parámetro en el análisis de semen para predecir el potencial fertilizador.

\*La prueba de capacitación espermática permite seleccionar del fluido seminal los espermatozoides de mejor calidad.

## Objetivos:

\*Nuestro objetivo es estudiar los cambios morfológicos de los espermatozoides del fluido seminal sometidos a tratamiento de capacitación espermática, mediante la técnica de swim up.

## Material y Métodos

Se incluyen en el estudio 20 muestras de semen obtenidas tras un período mínimo de abstinencia de 72 horas. Las muestras son posteriormente teñidas con la pretinción de Papanicolaou, para su estudio citomorfológico antes y después de someterles a la capacitación espermática mediante la técnica de swim up.

Criterios de normalidad (OMS 1999): La cabeza de un espermatozoide normal debe tener forma oval. La longitud debe ser entre 4 y 5,5 µm, y la anchura de entre 2,5 y 3,5 µm y debe poseer una región acrosomal bien definida que comprende entre el 40 y 70% del área de la cabeza. No deben existir defectos en la cabeza, segmento intermedio o flagelo.

En nuestro laboratorio diagnosticamos una teratozoospermia cuando la muestra estudiada contiene menos del 30% de espermatozoides morfológicamente normales según los criterios de la OMS de 1999.

## RESULTADOS:

\*Se observa una diferencia estadísticamente significativa ( $t=6.90$   $p=.000$ ) entre la morfología espermática de las muestras antes (27% (7-54.46)) y después (44% (20-64.34)) del tratamiento de la capacitación.

## Conclusiones:

El tratamiento de capacitación de espermatozoides móviles mediante la técnica de swim up mejora considerablemente la morfología de las muestras teratozoospermicas del fluido seminal.

**DETERMINACIÓN DE 25-HIDROXIVITAMINA D EN NIÑOS MENORES DE 1 AÑO MEDIANTE DOS INMUNOENSAYOS**

*Autor/a/s:* Cardona Farriol Jèssica, López García Consuelo, Ramos Felez Ester, Pérez Nieves Elisabeth, Granada Ybern M<sup>a</sup> Luisa, Pastor Ferrer M<sup>a</sup> Cruz.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitari Germans Trias i Pujol

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* jessicafarriol@hotmail.com

**Introducción:**

La vitamina D3 y la vitamina D2 son las formas más abundantes de vitamina D en el cuerpo. La mayoría de los ensayos determinan la 25- hidroxivitamina D total (D2+D3).

Estudios recientes han identificado un 3-epímero inactivo de 25-OH vitamina D que puede hallarse presente en el suero de niños menores de un año. Esta fracción de la concentración 3-epímero puede representar hasta un 50% de la 25-OH vitamina D total. Es importante que el ensayo no determine la forma 3-epímero inactiva, si no únicamente las formas D3 y D2 activas.

**OBJETIVO:**

El objetivo de este estudio es determinar la 25-OH vitamina D en suero de niños menores de un año por dos analizadores, el Liaison Diasorin que no detecta el epímero y el Modular E de Roche que reconoce el epímero con una reactividad cruzada del 93% y comparar los resultados.

**Material y Método:**

Se determinó la 25-OH vitamina D en 13 sueros de niños menores de un año, alimentados con leche materna sin suplemento de vitamina D por los analizadores Liaison Diasorin y Modular E. Además también se ha determinado 25-OH vitamina D en 38 sueros de adultos.

**Resultados:**

Las concentraciones de vitamina D medida por el Modular E, fueron más elevadas que la obtenidas por el Liaison en niños menores de un año, tuvieron una media de 23,12 ng/ml (SD = 13,77) en el Modular y una media de 14,56 ng/ml (SD = 8,89) en el Liaison (p=0,005). Mientras que en adultos no hubieron diferencias significativas, en el Modular tuvieron una medida de 24,74 ng/ml (SD = 24,13) y en el Liaison una media de 24,74 ng/ml (DS = 21,21).

En los niños menores de un año de las 7/13 muestras (53,8%) tienen una variabilidad superior al 15% mientras que en adultos esta variabilidad solo se observó en 6/38 muestras (15,8%).

**Conclusión:**

Los resultados de vitamina D en el Modular están significativamente elevados respecto al Liaison en niños menores de un año y en adultos no hay diferencia significativa. Este aumento de la concentración de la vitamina D es probable que sea por interferencia causada por 3-epímero vitamina D ya que es muy común en bebés por su inmadurez hepática.

**INFLUENCIA DEL TRANSPORTE EN LA DETERMINACIÓN DEL POTASIO SÉRICO**

*Autor/a/s:* NIETO PERALES PALOMA, GARRANDES ASPRON ROSA, PEREZ SANPEDRO PALOMA, VILLAMARÍN RODRÍGUEZ DAYANARA, MUÑOZ PALOS DANIEL, IZQUIERDO BAZAGA AARON, DÍAZ-OLIVER CRISTINA

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DE HIERRO MAJADAHONDA

*Provincia:* MADRID

*Correo electrónico del primer firmante:* CRISTINAHEIDI@HOTMAIL.ES

**Introducción:**

El uso del tubo neumático en el laboratorio de urgencias nos ha proporcionado grandes ventajas en cuanto a comodidad, rapidez y fiabilidad a la hora de recepcionar las muestras, pero una de sus desventajas es la ruptura de hemáties. La hemólisis es una interferencia habitual con repercusiones importantes sobre ciertos analitos como el potasio. Las muestras mandadas por el tubo neumático deben de estar en posición vertical con un sistema que amortigüe los posibles golpes y así evitaríamos el posible riesgo de hemólisis en el transporte.

**Objetivo:**

Valorar la repercusión del transporte de muestras por tubo neumático en la determinación de los niveles séricos de potasio.

**Material y Métodos:**

Se han recogido 70 muestras por duplicado de los servicios de urgencias, UCI médica, UCI quirúrgica y extracciones. Una de las muestras fue mandada por tubo neumático y la otra recogida en mano. Posteriormente hemos cuantificado por potenciometría indirecta los niveles séricos de potasio con sus correspondientes índices de hemólisis en el analizador Dimension EXL. Una vez obtenido los resultados se ha utilizado para comparar las medias la prueba de t de Student para datos apareados y el coeficiente de correlación de Pearson para medir la relación entre los valores. El programa utilizado para realizar el estudio estadístico fue el SPSS versión V15.0

**Resultados:**

Las medias de los potasios mandados por tubo neumático es de 4,2mmol/L con una desviación estándar 0,72mmol/L y las medias de los potasios recogidos en mano es de 4,18mmol/L con una desviación estándar de 0,75mmol/L. Las diferencias relacionadas es de 0,017 (IC 95%-0,023 y 0,058) p=0,39. El coeficiente de relación de Pearson=0,97 p>0,001.

**Conclusiones:**

No existen diferencias significativas de los potasios y su índice de hemólisis aplicables al transporte de las muestras enviadas por tubo neumático o recogidas en mano.

**APOYO DESDE EL LABORATORIO A EQUIPOS EXTERNOS DE GASOMETRÍAS**

*Autor/a/s:* María de los Angeles Esteban Pepió, M<sup>a</sup> Angeles Sanchez Porras

*Centro de trabajo:* Hospital Universitari Vall d'Hebrón

*Provincia:* Barcelona)

*Correo electrónico del primer firmante:* angelsesteban@hotmail.es, angelsesteban@gmail.com

**INTRODUCCIÓN:**

El Hospital Vall d'Hebrón está formado por tres hospitales: una Area General que comprende todas las especialidades médicas y quirúrgicas, una Area Materno-Infantil y una Area de Traumatología y Rehabilitación. Debido a la compleja estructura del Hospital y la ubicación del Laboratorio en un edificio externo a todos los Hospitales, se vio que era muy difícil garantizar que el Laboratorio de Urgencias pudiera dar los resultados de algunos parámetros críticos, como son gasometrías y análisis de electrolitos en un tiempo suficientemente corto para poder satisfacer las necesidades médicas que algunas unidades clínicas demandaban. Por todo ello se acordó conjuntamente, el laboratorio por un lado y las unidades clínicas implicadas por el otro, poner en marcha un programa de "Pruebas al lado del paciente" en el cual sería el laboratorio quien se encargaría de controlar y supervisar el correcto funcionamiento de estos equipos ubicados fuera del laboratorio.

**Objetivos:**

El objetivo de este trabajo es presentar el modelo, que se ha aplicado en nuestro Hospital, para dar soporte desde el laboratorio a las unidades clínicas que disponen de analizadores de gases e iones, basándonos en un programa informático de control remoto que permite al laboratorio controlar a tiempo real el estado de los diferentes equipos y realizar algunas acciones de forma remota.

**Material y Métodos:**

Programa informático de gestión:

- RapidComm™ (Siemens): programa informático ubicado en el Laboratorio al que están conectados los quince analizadores de gases, iones, metabolitos y coximetro, instalados fuera del laboratorio, que permite conocer en cualquier momento el estado real de cada equipo y realizar algunas acciones de forma remota.

Analizadores instalados:

- Hospital General: 3 RapidLab® 1200 y 5 RapidPoint® 400.

- Hospital de Traumatología: 2 RapidLab® 1200 y 1 RapidPoint® 400.

- Hospital Materno-Infantil: 4 RapidLab® 1200.

**RESULTADOS:**

El programa RapidComm™ permite ver desde el Laboratorio el estado de todos los equipos, si el analizador aparece en color verde indica que todo funciona correctamente, si aparece en color amarillo indica que tiene algún problema que no impide su funcionamiento y si esta en rojo indica que el equipo o algún analito en concreto no funciona, en este caso podemos ver las alarmas de los sucesos que han ocurrido.

El programa permite ver los resultados del control de calidad de cada analizador, cuando estos están dentro de los márgenes establecidos el equipo estará operativo, pero en el caso de que algún resultado de control esté fuera de los límites permitidos, desde el laboratorio se puede ordenar una repetición del análisis del control de calidad, aceptar el resultado o desactivar el parámetro.

También permite ver las calibraciones pudiéndose ordenar la repetición de estas a un punto o dos, así como ordenar lavados, purgados de reactivo y material de control, pruebas de funciones de las válvulas, etc.

Otra utilidad es que nos indica cuando debemos hacer los mantenimientos de los analizadores pues en nuestro caso es personal del Laboratorio quien realiza esta tarea. También nos indica cuando se debe cambiar los packs de reactivo y/o de control de calidad.

Los resultados de los pacientes también se pueden ver a través del programa RapidComm. Estas unidades clínicas realizan un promedio de 15000 análisis al mes.

#### Conclusiones:

El programa es útil para conocer el funcionamiento de cada analizador, así como para poder tomar las acciones oportunas sobre ellos de manera rápida y conseguir así que estos equipos periféricos trabajen dentro de los estándares de calidad y estén siempre operativos.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 310**

### ESTABILIDAD DE LA GLUCOSA EN SUERO EN DIFERENTES CONDICIONES DE CONSERVACION HASTA SU CENTRIFUGACIÓN

*Autor/a/s:* Amparo Santos Nuñez; Yolanda Alba Macías; Mari Carmen García Serrano; Susana Sanchez Muñoz; Ingrid Vilajuana López; Marc Morales Indiano; Jessica Cardona Farriol; Mari Cruz Pastor Ferrer

*Centro de trabajo:* Hospital Universitari Germans Trias i Pujol

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* ampsant@yahoo.es

#### INTRODUCCIÓN:

La glucosa es la mayor fuente de energía para las células del organismo; la insulina facilita la entrada de glucosa en las células.

La Diabetes Mellitus es una enfermedad que cursa con una hiperglucemia, causada por un déficit de insulina, y su diagnóstico se basa en la determinación de la glucosa. La concentración de glucosa disminuye en las dos primeras horas desde la extracción, entre un 5-7% por hora, debido al efecto de la glucólisis.

La OMS recomienda, para minimizar este efecto, mantener el tubo refrigerado y separar el suero de las células antes de 30 minutos.

#### OBJETIVO:

Evaluar la estabilidad de la concentración de la glucosa en suero, en función de la temperatura de almacenamiento y del tiempo transcurrido desde la extracción hasta la separación del suero de las células sanguíneas.

#### Material y Métodos:

Se extrajeron 3 muestras idénticas a 50 pacientes en tubos Vacutainer® de 3.5 mL, sin anticoagulante y con gel separador. Los tubos se procesaron en diferentes condiciones: Tubo 1: refrigerado 30 minutos y centrifugado en frío; Tubo 2: refrigerado 2 horas y Tubo 3: conservado a temperatura ambiente 2 horas; ambos tubos 2 y 3 centrifugados a temperatura ambiente.

Las concentraciones de glucosa en suero se determinaron por el método enzimático de glucosa hexoquinasa en el analizador Cobas c711 de Roche Diagnostics.

#### RESULTADO:

Se observó una disminución de la glucosa en los tubos 2 y 3 respecto a los tubos 1, de 2.56% (IC 95%, -1.83 - 7.65%) y de 10.34 % (IC 95%, 5.10 - 19.52%) respectivamente. Con estos resultados y considerando los criterios de la ADA (American Diabetes Association), diagnosticaríamos Diabetes Mellitus en el 14% de pacientes utilizando el tubo 1, en el 12% con el tubo 2 y en el 10% con el tubo 3.

#### Conclusiones:

Con un procedimiento sencillo cómo es mantener las muestras refrigeradas hasta la centrifugación y sin superar las 2 horas, hemos mejorado los resultados, obteniendo una disminución menor de la concentración de glucosa en suero. Esta mejora en las condiciones pre-analíticas, implicaría un aumento del 2% de pacientes diagnosticados de DM.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 315**

### DETERMINACIÓN DE CORTISOL SALIVAL EN TRABAJADORES DEL TURNO DE NOCHE

*Autor/a/s:* Mari Carmen García Serrano; Susana Sanchez Muñoz; Yolanda Alba Macías; Amparo Santos Nuñez; Fernando Moreno Flores; Marc Morales Indiano; Ingrid Vilajuana López; Esther Ramos Felez; María Luisa Granada Ybern; Mari Cruz Pastor Ferrer

*Centro de trabajo:* Hospital universitari Germans Trias i Pujol

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* feredi2308@gmail.com

#### INTRODUCCIÓN:

El cortisol es el glucocorticoide más potente producido por la glándula adrenal.

Sintetizado a base de colesterol, la producción del cual, está estimulado por la hormona adrenocorticotropina, la cuál es regulada por el agente liberador corticotropina.

El cortisol es conocido como la hormona del estrés, ya que su producción tiene un ciclo dependiente del ritmo de la adrenocorticotropina, el cuál llega a su cima por la mañana y a su punto más bajo por la noche.

#### OBJETIVO:

Evaluar, en los trabajadores de turno de noche, la magnitud de la alteración del ritmo circadiano de cortisol salival, ya que su medición es un buen examen para diagnosticar el síndrome de Cushing, patología en la que se altera la liberación de cortisol.

#### MATERIAL Y METODOLOGIA:

Las muestras se recogieron a las 23.00 horas mediante el sistema Salivette® (Sarstedt), se centrifugaron a 2500rpm durante 10 minutos y el sobrenadante se almacenó a -20°C hasta su procesamiento.

El cortisol salival se realizó en el analizador Modular E170, Roche Diagnostics, mediante inmunoensayo electroquimioluminiscente.

El estudio se ha realizado con 53 voluntarios sanos y 48 voluntarios del turno de noche, 23 trabajaban una noche y 25 trabajaban dos noches seguidas.

Las variables cuantitativas se han expresado como mediana (percentil 2.5-97.5) y las frecuencias como porcentajes.

#### RESULTADOS:

De los voluntarios de turno de noche, un 35,4% presentaron concentraciones de cortisol salival falsamente elevadas (intervalo de referencia: <0,3 µg/dl). Se observan diferencias significativas entre el cortisol salival de los voluntarios sanos: 0,051 µg/dL (0,017-0,220 µg/dl) y los voluntarios del turno de una noche: 0,326 µg/dL (0,055-0,939 µg/dL) p<0,001 y los voluntarios de dos noches: 0,237 µg/dL (0,053-0,577 µg/dL) p<0,001, pero no entre los voluntarios de una noche y los de dos noches. Después de excluir a los voluntarios con cortisol falsamente elevado se han observado diferencias entre los voluntarios sanos y el turno de una noche: 0,136 µg/dL (0,055-0,258 µg/dL) p<0,001 y el turno de dos noches: 0,148 µg/dL (0,053-0,255 µg/dL) p<0,001, pero no entre el turno de 1 noche y el de 2 noches.

#### Conclusiones:

Los voluntarios del turno de noche tienen una concentración salival a las 23.00 horas, significativamente más elevadas que los voluntarios sanos, pero no se encuentran diferencias entre los diferentes turnos de noche.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 320**

### EL NT-PROBNP EN EL LABORATORIO DE BIOQUÍMICA DE URGENCIAS

*Autor/a/s:* José Ignacio Pinar Iranzo

*Centro de trabajo:* Hospital Nuestra Señora de Gracia

*Provincia:* Zaragoza

*Correo electrónico del primer firmante:* jipinar@hotmail.com

#### Introducción:

El péptido natriurético cerebral N-Terminal (NT-proBNP) representa el fragmento N-Terminal del proBNP, el precursor de alto peso molecular del BNP biológicamente activo.

El NT-proBNP circula en grandes concentraciones en plasma y puede ser fácilmente detectado y cuantificado por ensayos inmunométricos. Su determinación es potencialmente útil para diversos trastornos cardiovasculares, en especial la insuficiencia cardíaca y el síndrome coronario agudo.

#### Objetivos:

Valora el número de solicitudes de NT-proBNP durante el año 2011 en el Hospital Nuestra Señora de Gracia. Su distribución por sexo y edad.

#### Material y Métodos:

Se determinaron 258 muestras sanguíneas procedentes de diversos servicios de nuestro hospital: urgencias, ucis y plantas de hospitalización en las que se solicitaba NT-proBNP.

Estas determinaciones se realizan mediante inmunoensayo en COBAS e 601 de Roche Diagnostics.

Los rangos de normalidad de nuestro laboratorio son NT-proBNP (0-300pg/ml)

#### RESULTADOS:

Total 258 determinaciones de NT-proBNP. Distribución por sexo: 100 (38,76%) hombres y 158 (61,24%) mujeres.

En la distribución por edades se excluyeron 3 muestras por falta de datos, las 3 muestras de hombres, de las que una era no patológica y las otras dos restantes patológicas. De las 255 restantes muestras y dentro de los valores patológicos (puntos de corte según edad): NT-proBNP >450 pg/ml (<50 años) hay 1 (25%) mujeres y 1 (25%) hombres; NT-proBNP >900 pg/ml (>=51 a 75 años) hay 7 (21,87%) mujeres y 6 (18,75%) hombres; NT-proBNP >1800 pg/ml (<=76 años) hay 92 (42,00%) mujeres y 58 (26,8%) hombres.

#### Conclusión:

La mayoría de NT-proBNP se solicitaron a mujeres comprendidas en edades superiores a >=75 años. En todas las franjas de edad la mayoría corresponde a mujeres excepto en la franja de >=51-75 años con valores no patológicos que cambia a hombres.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 326**

### **ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS TOTALES: DIMENSION R<sub>xL</sub> (SIEMIENS) Y ADVIA 2400 (SIEMENS)**

*Autor/a/s:* SOISA LOPEZ, CAROLINA; RODRIGUEZ SANCHEZ, INES; GUTIERREZ DELGADO, DOLORES; TULLY SANCHEZ, M<sup>o</sup>DEL MAR; GAMERO VILLARROEL, CARMEN; FERNANDEZ FATOU, BLANCA

*Centro de trabajo:* HOSPITAL INFANTA CRISTINA

*Provincia:* BADAJOZ

*Correo electrónico del primer firmante:* carsoilop@yahoo.es

#### RESUMEN:

ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS TOTALES: DIMENSION R<sub>xL</sub> (SIEMIENS) Y ADVIA 2400 (SIEMENS)

#### Introducción:

Las proteínas realizan multitud de funciones en nuestro organismo que permiten su correcto funcionamiento, participan en la nutrición, equilibrio electrolítico y ácido-base, los mecanismos de transporte, la coagulación, la inmunidad, y la acción enzimática.

La determinación de proteínas totales del plasma proporciona información de estados patológicos de numerosos sistemas orgánicos, permitiendo diagnosticar y llevar un seguimiento de problemas nutricionales, enfermedades renales y enfermedades hepáticas.

#### Objetivo:

Correlacionar los resultados obtenidos para la determinación de proteínas totales en plasma por una técnica bicromática de punto final, entre el autoanalizador utilizado en el laboratorio de Urgencias Dimension R<sub>xL</sub> (Siemens), y el autoanalizador en uso en el laboratorio de rutina, Advia 2400 (Siemens), y evaluar la transferibilidad de los resultados obtenidos por ambos equipos.

#### Material y Métodos:

Se han procesado 90 muestras de plasma (heparina de litio), en primer lugar en el autoanalizador Dimension R<sub>xL</sub>, y a continuación en el Advia 2400, con un intervalo de tiempo menor a 3 horas entre ambas determinaciones.

#### Resultados:

El análisis estadístico se ha llevado a cabo con el programa Method Validator mediante la regresión lineal no paramétrica de Passing-Bablok, con un intervalo de confianza del 95%, y tomando como método de referencia el autoanalizador Advia 2400.

Coefficiente de correlación: 0.993

Regresión Passing-Bablok: Pendiente: 1.048 (1.000-1.080)

Ordenada en el origen 0.34 (0.15-0.60)

Intervalos de confianza: IC 95 %

#### Conclusión:

Según los resultados obtenidos podemos concluir que existe una buena correlación estadística, con un coeficiente de correlación de  $r=0.993$ . En la recta obtenida, la ordenada en el origen no incluye el 0, aunque la pendiente si incluye el 1, de manera que existe una diferencia sistemática entre los resultados de ambos equipos, por lo que se ha necesitado aplicar un factor de corrección en el equipo en uso en Urgencias, para que los resultados de los dos equipos sean intercambiables. De esta forma se asegura una correcta transferibilidad de los resultados, garantizando así un adecuado seguimiento clínico de los pacientes.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 328**

### **EVALUACION DEL PROTOCOLO DE MUESTRAS HEMOLIZADAS EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS DEL HOSPITAL DE MANACOR**

*Autor/a/s:* MARIA CONTRERAS ALOMAR, NANCY MENDEZ MARTINEZ, OLGA AYLLON GATNAU

*Centro de trabajo:* LABORATORIO DE URGENCIAS DEL HOSPITAL DE MANACOR

*Provincia:* BALEARES

*Correo electrónico del primer firmante:* marions1980@hotmail.com

#### Introducción:

La hemólisis constituye una de las incidencias preanalíticas más frecuentes en el laboratorio clínico, por lo que es una de las principales causas de rechazo de muestras. La hemólisis se define como la rotura de los eritrocitos y la subsiguiente liberación de hemoglobina y otros componentes intracelulares al plasma circundante. Es posible diferenciar entre la hemólisis in vitro e in vivo. Así, mientras que la hemólisis in vivo es propia de enfermedades sanguíneas, como la anemia hemolítica, la hemólisis in vitro sucede durante la obtención, el transporte y el procesamiento de la muestra. Existen múltiples causas: extracción desde una vía, calibre inadecuado de la aguja, tubos mal rellenados, mala homogeneización de los tubos, transporte en malas condiciones, centrifugación, etc).

La hemólisis induce, por ejemplo, una sobreestimación en la determinación de potasio (K), aspartato aminotransferasa (AST) y lactato deshidrogenasa (LDH), mientras que se traduce en una infravaloración de gamma-glutamyltransferasa y bilirrubina total. La interferencia se relaciona con el grado de lisis de los hematíes y con los métodos analíticos

En nuestro laboratorio se han establecido distintos rangos de hemólisis para decidir qué resultados de las distintas determinaciones bioquímicas se pueden informar y cuando será necesario solicitar una nueva muestra. Según nuestro protocolo, la lactato deshidrogenasa (LDH) y la aspartatoaminotransferasa (AST) se afectan a partir de un IHEM (índice de hemólisis) superior a 50 mg/dl y para el potasio, un IHEM superior a 100 mg/dl.

#### Objetivos:

Revisar la interferencia por hemólisis en las muestras procesadas en el Laboratorio de Urgencias del Hospital de Manacor y determinar si es necesario llevar a cabo acciones posteriores para minimizarla.

#### Material y Métodos:

Se han revisado las muestras procesadas durante el mes de enero de 2012 por uno de los equipos de química seca Vitros 5.1 FS, en el Laboratorio de Urgencias y se ha recogido el resultado de 3 analitos (AST, LDH y K).

El índice de hemólisis es detectado por colorimetría mediante un sistema automatizado y se utiliza el Microsensor Check Fluid (I yll) como material de control. Los datos obtenidos se han tratado estadísticamente con la aplicación Microsoft Excel v.2007.

#### Resultados:

De un total de 1573 muestras de suero procesadas, el porcentaje de muestras hemolizadas (% HE=número de muestras hemolizadas/ número de muestras remitidas) fue del 9,8% (154). En 106 de ellas (68,38 %) había uno o más de los parámetros estudiados afectados y se recibió una nueva muestra en 37 de los casos. En cuanto al origen petionario, 114 (74%) proceden del Servicio de Urgencias.

Para valorar el impacto de la hemólisis se ha calculado la reducción porcentual para cada par de datos (muestra hemolizada-muestra no hemolizada) y la media ponderada sin estratificar por rango de hemólisis, obteniéndose los siguientes resultados AST (-43,2%), LDH (-64,3%) y K (-33,4%).

#### Conclusiones:

1.-Este estudio preliminar avala el protocolo de hemólisis utilizado en el Laboratorio de Urgencias del Hospital de Manacor. Según los datos obtenidos, la mayoría de las muestras proceden del Servicio de Urgencias, seguido del servicio de Hospital de día (HDD).

2.-El porcentaje de muestras hemolizadas obtenido (9,8%) indica que es bastante significativo. Sería necesario ampliar el tamaño muestral para poder llevar a cabo, si fuera preciso, las acciones correctoras pertinentes.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 329**

### **LÍQUIDOS BIOLÓGICOS EN LABORATORIO DE URGENCIAS**

*Autor/a/s:* ANA MARÍA COLMENERO MARTOS

*Centro de trabajo:* HOSPITAL MÍDICO-QUIRÚRGICO COMPLEJO HOSP. DE JAÉN

*Provincia:* JAÉN

*Correo electrónico del primer firmante:* ana4761@andaluciajunta.es

#### INTRODUCCIÓN:

El Laboratorio de Urgencias enmarcado en la Unidad de Gestión Clínica de Análisis Clínicos del Hospital Médico-Quirúrgico forma parte del Complejo Hospitalario de Jaén. Entre sus cometidos están las pruebas de carácter urgente a líquidos biológicos: ascíticos, peritoneales, cefalorraquídeos, pleurales, sinoviales y pericárdicos. Éstos son el objeto de este estudio como claves diagnósticas.

#### Objetivos:

Estudio de resultados en determinaciones practicadas en líquidos biológicos y su

implicación diagnóstica. Información sobre la fisiopatología de los órganos y tejidos donde se generan, decisiva en la práctica clínica en tiempo adecuado.

## MATERIALES Y MÉTODOS:

### MATERIALES:

- Centrífuga.
- Contador hematológico Advia 2120 Siemens.
- Analizador bioquímico Dimensión EXL Siemens.
- Tubos.
- Pipetas.
- Portas de cristal.
- Microscopio.
- Suero fisiológico.
- Colorantes para tinción.
- Reactivos.

### MÉTODOS:

- PNT ADVIA 2120
- PNT DIMENSION EXL.
- Extracto de la secuencia de trabajo.

Tras la petición de pruebas solicitadas, procedemos al estudio del líquido separando en un tubo unos 3 c.c. y centrifugamos 3 minutos a 4000 rpm. Con el sobrenadante hacemos el estudio bioquímico y con el sedimento la extensión. El resto del líquido sin centrifugar se utiliza para el recuento celular.

## RESULTADOS:

El número de líquidos biológicos analizados ha sufrido un aumento del 40.42% en el año 2011 con respecto al 2010. Se exponen los resultados para las determinaciones realizadas durante el 2010 y la evolución en 2011. Se expresa la importancia diagnóstica de estas pruebas referida a los años del estudio, así como los aspectos tecnológicos más relevantes de los analizadores usados.

## Conclusiones:

La importancia de las pruebas realizadas es de máximo interés para la realización de un diagnóstico diferencial.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 331**

## EVALUACION DE AMONIO PLASMÁTICO EN PACIENTES HOSPITALARIOS.

*Autor/a/s:* NANCY MENDEZ MARTINEZ; MARIA CONTRERAS ALOMAR, OLGA AYLLON GATNAU.

*Centro de trabajo:* LABORATORIO URGENCIAS HOSPITAL DE MANACOR

*Provincia:* BALEARES

*Correo electrónico del primer firmante:* webnancy\_1980@hotmail.com

### Introducción:

El amonio es un compuesto producido por las bacterias intestinales y por las células del organismo durante el proceso de digestión de las proteínas. Es un producto de desecho que se transporta hacia el hígado, donde es convertido a urea y a glutamina. La urea es posteriormente transportada por la sangre hacia los riñones para excretarla por la orina.

Si este "ciclo de la urea" no se completa correctamente, el amonio se acumula en la sangre y atraviesa la barrera hematoencefálica llegando al cerebro.

El hígado es el encargado de eliminar la mayor parte del amonio de la sangre transformándolo en urea, que será eliminada por el riñón. Esta función es muy importante ya que el amonio es una sustancia neurotóxica y tiene afinidad por los tejidos grasos como el cerebro.

La determinación de amonio es una prueba de ámbito hospitalario y se realiza en sangre total EDTA. Ha de procesarse de forma inmediata (menos de 30 minutos) después de la extracción de la muestra. En caso de demora, se guarda con hielo y en nevera entre 2 y 8 grados.

### Objetivos:

Revisar la positividad de la prueba durante los años 2010-2011 en el Laboratorio de Urgencias del Hospital de Manacor y evaluar si su demanda ha sido la correcta.

### Material y Métodos:

Se han revisado las historias clínicas de aquellos pacientes con amonio superior a 75 microgramos/dl, realizados en el equipo AMMONIA CHECKER II (refletómetro molecular).

Se han rechazado aquellas muestras que no cumplieran las condiciones pre analíticas establecidas en nuestro laboratorio.

## Resultados:

De un total de 209 muestras analizadas, dan un resultado positivo 44. De éstas, 14 corresponden a pacientes pediátricos (0-14 años) y 30 corresponden a 17 pacientes adultos (>14 años).

- En niños menores de 1 año (10 casos), se sospecha un cuadro infeccioso/sepsis como diagnóstico principal
- En niños de edad comprendida entre 8-13 años (4 casos), se estudian posibles problemas cognitivos y/o de aprendizaje
- El origen peticionario en el grupo de niños corresponde a 5 muestras de Consultas Externas, 8 de Hospitalización y 1 de Urgencias
- En adultos, con una edad media de 57 años (rango 35-82) y predominantemente hombres (11 casos), se diagnostican 4 casos de encefalopatía hepática, 4 de shock séptico, 3 de coma y el resto se engloba en otros diagnósticos
- El origen peticionario en adultos corresponde a 7 de UCI, 8 de Urgencias y 2 de Hospitalización

## Conclusiones:

Los datos derivados de este estudio muestran que:

- En niños menores de 1 año la solicitud de la prueba va enfocada a diagnosticar procesos agudos.
- En niños de entre 1 y 14 años la solicitud de amonio forma parte de protocolos más complejos y de urgencia relativa.
- En adultos, los servicios demandantes de esta prueba son servicios muy concretos del Hospital que tienen al cuidado pacientes en estado grave/crítico.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 332**

## LA IMPORTANCIA DE LA EDUCACION DIABETOLÓGICA EN LA HEMOGLOBINA GLICOSILADA

*Autor/a/s:* RODRIGUEZ TOLEDO MARIA MILAGROS, BARROSO PADILLA MARIA CANDELARIA, VENEGAS ANTEQUERA FRANCISCA, HERNANDEZ RIOS JESUS LUZ, PEREZ LA ROSA MERCEDES, ZARATE MENDEZ MARIA DEL CARMEN, HERRERA DELGADO MARIA DEL CARMEN.

*Centro de trabajo:* CAE PUERTO DE LA CRUZ

*Provincia:* SANTA CRUZ DE TENERIFE

*Correo electrónico del primer firmante:* EL-LAGAR-DEPEDRO@HOTMAIL.COM

### Introducción:

La diabetes es una enfermedad, cuya expansión a nivel mundial en cuanto a prevalencia está alcanzando proporciones epidémicas afectando al 15% de la población. Este incremento en la prevalencia viene marcado principalmente por la diabetes tipo 2 como consecuencia de los hábitos sedentarios, la obesidad y el aumento de la esperanza de vida.

Se estima que en Canarias existen aproximadamente 192.000 personas con diabetes y otros 70.000 desconocen que padecen esta enfermedad.

### Objetivo:

Comparar las HbA1c de pacientes del área norte de Tenerife entre 2010/2011 y la influencia de la educación sanitaria en diabetes en el último año.

Controlar la morbilidad de la diabetes a través de la determinación de HbA1c.

### Material y Método:

La educación para la salud es esencial en el abordaje terapéutico del paciente diabético. Se pretende que las personas estén mejor preparadas consiguiendo incrementar los conocimientos, desarrollar habilidades y modificar las actitudes de las personas con diabetes. Esta educación se lleva a cabo en los centros de Atención Primaria y Especializada.

La HbA1c ha sido incorporada como criterio diagnóstico de la diabetes en la revisión de la ADA (Asociación Americana de Diabetes) en el año 2010 dada su correlación con los valores glucémicos y su reconocida asociación a la presencia de complicaciones crónicas.

Los datos estadísticos los hemos obtenido de la base de datos del Hospital Universitario de Canarias, centrándonos en la zona norte de la isla.

## Resultados:

De un total de 30606 HbA1c en el año 2010 frente a las 28115 del año 2011 en la zona que abarca este centro (área Norte de Tenerife) las HbA1c patológicas a partir de 6,5 mg/dl en el año 2010 fueron de 13719 en relación con el año 2011 en el que las patológicas se situaron en 16455.

## Conclusiones:

Dados los altos índices de HbA1c en estos dos años, y considerando que Canarias es una de las comunidades con más prevalencia de diabetes y obesidad según la consejería de sanidad del gobierno de Canarias, consideramos que la educación de la población es

esencial para reducir estas cifras de HbA1c, ( que incluso en el año 2011 aumentaron), disminuyendo las complicaciones crónicas que conlleva estas cifras y con ello el gasto sanitario que produce esta enfermedad.

Con todo esto, concluimos en que hay que seguir haciendo hincapié en la modificación del estilo de vida de la población, seguir formándola e informándola.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 347

### ESTUDIO DESCRIPTIVO SOBRE EL USO DE PROCALCITONINA EN LOS DIFERENTES SERVICIOS PETICIONARIOS AL LABORATORIO DE URGENCIAS

Autor/a/s: Pérez Arias María del Carmen, Muñoz Heras Susana, Pozo García Gema, Bonilla Liberal Raquel, Hidalgo Zamora María Angeles, Mónica Cogolludo Sánchez

Centro de trabajo: Hospital Universitario de Getafe

Provincia: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: cperezarias2002@yahoo.es

#### Introducción:

La procalcitonina ( PCT ) es la prohormona de la calcitonina formada por 116 aminoácidos. Puede ser producida por células de diferentes tipos y por diversos órganos como respuesta a los estímulos pro-inflamatorios, especialmente a productos bacterianos.

Las concentraciones de PCT en personas sanas son inferiores a 0.05 ng/mL y pueden aumentar hasta 1000

ng/mL en pacientes con sepsis, sepsis grave o shock séptico. Las concentraciones mayores de 0.5 ng/mL sugieren un síndrome séptico.

Además, de su gran valor para el diagnóstico de la sepsis, la PCT ha demostrado ser también muy útil para la monitorización del desarrollo de la enfermedad y sobre el pronóstico del paciente séptico

#### Objetivo:

Conocer cuales son los principales servicios peticionarios de procalcitonina en el Laboratorio de Urgencias durante los años 2010 y 2011.

#### Material y Métodos:

Se analizaron las peticiones de PCT, de los principales servicios demandantes, al Laboratorio de Urgencias: Pediatría, Urgencias de Pediatría, Unidad de Cuidados Intensivos, Unidad de Grandes Quemados y Cirugía Plástica durante los años 2010 y 2011.

Se recibieron un total de 4779 peticiones de PCT, 2309 correspondientes al año 2010 y 2470 al año 2011. Estas peticiones pertenecían a 2098 pacientes, 999 del año 2010 y 1099 del año 2011. El 41,7% fueron mujeres (876) y el 58,3 % fueron hombres (1222). El rango de edad oscilaba entre un mes y 94 años.

Las determinaciones de PCT se realizaron en muestras de plasma tratado con heparina de litio. El método de análisis utilizado fue un inmunoensayo de electroquimioluminiscencia cuantitativo (Elecsys Brahms PCT) por técnica de sándwich, en un Cobas 6000 Roche "C".

#### Resultados:

De las peticiones recibidas el 64,64 % procedían de la Unidad de Cuidados Intensivos, el 12,98 % de Urgencias de Pediatría, el 12,32 % de Pediatría, el 8,5 % de Grandes Quemados y el 1,56 % de Cirugía Plástica.

Los pacientes que más determinaciones recibieron fueron los de UCI con 3,6 determinaciones por paciente, seguidos de los pacientes de la Unidad de Grandes Quemados con 3,44 determinaciones por paciente. Sin embargo en Pediatría un 38% de los pacientes necesitó una segunda determinación en días posteriores. En Urgencias de Pediatría solo el 8% tiene más de una determinación.

#### Conclusiones:

El uso de PCT, depende del servicio peticionario, desde UCI y Grandes Quemados se usa no sólo para diagnóstico de sepsis sino sobre todo para la monitorización y evolución del paciente, permitiendo un control del tratamiento antibiótico y establecer un pronóstico del paciente. Sin embargo en Pediatría se usa sobre todo en niños febriles para el diagnóstico de infección bacteriana grave: sepsis, meningitis, ... por lo que la repetición de los resultados se hacen mas como confirmación de la sospecha y evolución a corto plazo.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 348

### MODIFICACIÓN DE LOS NIVELES DE INSULINA Y GLUCOSA EN RATAS DIABÉTICAS NO OBESAS SOMETIDAS A DERIVACIÓN GASTROEYUNAL

Autor/a/s: CONDE VICENTE ROSA, PRIMO MARTÍN DAVID, DOMINGA ANDRÉS MARÍA

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO RÍO HORTEGA

Provincia: VALLADOLID

Correo electrónico del primer firmante: rosa-conde@telefonica.net

### INTRODUCCIÓN:

La cirugía bariátrica da lugar a una resolución rápida de la diabetes de tipo 2. Este efecto ha sido interpretado como resultado de la pérdida de peso inducida por el descenso de la ingesta calórica consecutivo a la cirugía. Sin embargo, el control glucémico se produce de forma temprana (anterior a una pérdida significativa de peso) lo que sugiere la implicación de mecanismos permanentes del control hormonal.

### OBJETIVO:

Estudiar el efecto de la derivación gastroyeyunal (DGY) sobre el control glucémico y los niveles de insulina en sangre en un modelo de rata diabética tipo 2 no obesa (Goto-Kakizaki, GK).

### MATERIAL Y MÉTODO:

Fueron estudiadas 23 ratas GK distribuidas aleatoriamente en 2 grupos: 1) Grupo de intervención: derivación gastroyeyunal (DGY, n=9); y 2) Grupo control: ratas no operadas (n=15). Se determinaron los niveles de insulina en sangre (ELISA, DRG Diagnostics®), así como el índice de resistencia a la insulina (HOMA) y se realizó un test de tolerancia oral de glucosa (TOG) con determinación de la glucemia a los 0, 20 y 120 minutos (Glucómetro, One Touch®, LifeScan) en los siguientes tiempos: semana 0 (basal, prequirúrgica), semana 1 y semana 8.

### RESULTADOS:

TOG (Tabla 1). En la semana 1 a los 20 minutos del TOG, se observó una glucemia significativamente más baja en el grupo DGY (302,2 ± 78,8 mg/dL) respecto a la semana 0 (410,1 ± 114,1 mg/dL) y al grupo control (382,4 ± 87,9 mg/dL). Además, el ratio 120/0 fue significativamente menor en el grupo DGY con relación al control en la semana 1 y en la 8.

Tabla 1. Test de Tolerancia Oral a Glucosa (mg/dL)

	Control			DGY		
Glucemia	Sem.0	Sem.1	Sem.8	Sem.0	Sem.1	Sem.8
0'	131,3±62,7	109,0±24,8	106,2±23,6	180,4±74,4	156,1±47,7 #	157,1±17,9 #
20'	410,1±106,3	382,4±87,9	374,9±95,6	410,1±114,1	302,2±78,8 # *	322,6±77,5
120'	472,6±81,8	441,9±84,1	480,7±94,0	473,4±90,7	463,3±92,5	488,7±65,1
120'/0'	4,2±1,7	4,2±0,97	4,6±0,87	3,0±1,3	3,1±0,96 #	3,2±0,53 #
*p<0,05 diferencias dentro de los grupos respecto a la semana 0						
#p<0,05 diferencias entre los grupos						

Insulina y HOMA (Tabla 2). No hubo diferencias significativas entre el grupo control y el DGY. Sin embargo, en los controles se observó un descenso significativo entre la semana 0 y la 8. En el grupo DGY el descenso de la semana 1 y el ascenso de la 8 no mostraron diferencias significativas. El HOMA del grupo DGY disminuyó significativamente después de 1 semana de la intervención respecto a la semana 0 y al grupo control.

Tabla 2. Niveles de insulina (µg/L) en suero e Índice de resistencia a insulina (HOMA)

	Control	DGY
Insulina-0	1,61±1,09	1,34±0,58
Insulina-1	1,33±0,79	0,89±0,55
Insulina-8	0,81±0,58 *	1,22±1,19
HOMA-0	44,7±35,0	35,1±18,9
HOMA-1	29,6±16,9	15,3±8,1*#
HOMA-8	16,9±11,8*	28,6±33,9
*p<0,05 diferencias dentro de los grupos respecto a la semana 0		
#p<0,05 diferencias entre los grupos		

### Conclusiones:

En ratas Goto-Kakizaki, la exclusión del duodeno proximal mediante DGYs provoca una mejoría, tanto de la tolerancia a la glucosa, como de la resistencia a insulina que se ponen de manifiesto una semana después la cirugía.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 350

### AVANCES TECNOLÓGICOS, REPERCUSIÓN EN ATENCIÓN PRIMARIA)

Autor/a/s: Mauri Castro M<sup>a</sup> Carmen, García Tirador Francisco, Moron Romero Domingo

Centro de trabajo: Hospital U. Virgen Macarena

Provincia: Sevilla

Correo electrónico del primer firmante: mcmauri1@movistar.es

### Introducción:

Las unidades de laboratorio han pasado a constituirse en el transcurso de pocos años, en unas unidades especialmente significativas, y necesarias para la atención de salud a todos sus niveles, tanto hospitalario como extra hospitalario y de atención primaria. La evolución de las mismas, el desarrollo tecnológico y de programas de información y comunicación, hacen necesario mejorar todos aquellos aspectos relacionados con los análisis clínicos.

### Objetivo:

Promover la accesibilidad de la población. Racionalizar la red asistencial pública de las unidades de laboratorio. Conseguir que las determinaciones y procesos reúnan las condiciones de calidad, mediante su integración en los programas de calidad. Introducir criterios de eficacia y eficiencia.

### Material y Métodos:

Atendemos a una población de más de 550.000 habitantes. El 49% de la población se centra en el área urbana de la capital, el resto corresponde a los distritos sanitarios de Camas, Sierra Norte, Rinconada y Carmona.

Hospitalización ordinaria: 2.332.997

Hospitalización urgentes: 2.818.130

Urgencias puertas: 2.236.502

Consultas externas: 3.556.536

Extra hospitalarias: 6.448.190

### Resultados:

Realizamos más de 15 millones de determinaciones analíticas. Atendemos a más de 60.000 pacientes anticoagulados. Cruzamos más de 25.000 bolsas de sangre. Recepcionamos más de un millón de muestras de sangre.

### Conclusiones:

Las unidades de laboratorio en las relaciones con primaria del hospital Universitario Virgen Macarena, deberán servir de referencia a los distintos centros de atención primaria de referencia, para: Armonizar actitudes y esfuerzos. Unificar criterios. Homogeneizar el desarrollo de un sistema de control de calidad. Evitar la variabilidad en la puesta en marcha de las decisiones y propuestas. Dinamizar el trabajo de las distintas unidades, en pro de ofrecer al ciudadano la mejor atención, calidad y resultados. Es necesario implantar la petición electrónica. Hay que continuar con el desarrollo de programas informáticos de gestión y análisis de resultados. Mejorar los procesos implementados procedimientos y programas que mejoren la seguridad del usuario.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 351**

### VALORES DE REFERENCIA DEL PH ARTERIAL DE CORDON UMBILICAL PARA CLASIFICACION DE HIPOXIA NEONATAL.

*Autor/a/s:* SOFIA GARCIA PINO, SALVADOR MADRID ROSADO, DANIEL PINO LOPEZ, RAQUEL GAVIRA JIMENEZ.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL COSTA DEL SOL

*Provincia:* MALAGA

*Correo electrónico del primer firmante:* MADRIDSAL@HOTMAIL.COM

### INTRODUCCIÓN:

La determinación del estado ácido-básico fetal para la valoración de la hipoxia neonatal ha sido introducida en nuestro Hospital mediante la medición del pH arterial del cordón umbilical en el momento del parto junto con el test de APGAR.

El punto de corte que se establece para determinar una asfixia neonatal no está claro y en la bibliografía aparecen distintos valores, desde 7.0 hasta 7.27, por lo que el Área de Ginecología nos pidió establecer, en función de nuestra población, un punto de corte adecuado.

### OBJETIVO:

Obtener los valores de referencia y puntos de corte del pH arterial de cordón umbilical para la clasificación de Hipoxia neonatal.

### Material y Métodos:

Se seleccionaron 500 neonatos con un test de APGAR normal (Media APGAR al minuto de 9.03), a los cuales se les determinó el pH arterial de cordón umbilical con un gasómetro ABL 77 (Radiometer) situado en el quirófano de partos. Los controles de calidad y calibraciones fueron realizados por los técnicos de laboratorio del área de urgencias y los resultados obtenidos se valoraron a través de un sistema de gestión remota desde el propio Laboratorio (Radiance. Radiometer)

### RESULTADOS:

Una vez comprobado que los resultados obtenidos seguían una distribución normal, se calculó una media de pH arterial en cordón umbilical de 7.243. DE= 0.076. Así se estableció un rango de pH normal de 7.1-7.4.

### Conclusiones:

En sesión clínica conjunta con el Área de Ginecología se consensuó un punto de corte para valorar la hipoxia neonatal de: > 7.1 normal; <7.0 hipoxia y entre 7.0-7.1 valorar clínicamente junto con el test de APGAR. Además el rango obtenido coincide con uno de los artículos más recientes y con mayor número de casos estudiados.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 359**

### EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS DEL ANÁLISIS SISTEMÁTICO DE ORINA AUTOMATIZADO A LO LARGO DE 24 HORAS

*Autor/a/s:* ANA CALVENTE PEREZ, CATALINA RIOS QUESADA, DOLORES QUINTANILLA

*Centro de trabajo:* HOSPITAL PUERTA DEL MAR

*Provincia:* CADIZ

*Correo electrónico del primer firmante:* anacalvente@andaluciajunta.es

### Introducción:

El análisis de los componentes celulares y bioquímicos de la orina reciente constituye una de las pruebas más solicitadas para el diagnóstico de infecciones, enfermedad renal, etc. Está recomendada su determinación en un periodo de tiempo inferior a dos horas para evitar la alteración de dichos componentes.

### Objetivos:

- 1 Analizar los parámetros bioquímicos y celulares de las orinas de primera hora de la mañana en distintos tiempos desde su emisión para valorar la alteración de sus componentes.
- 2 Establecer el tiempo máximo para su análisis desde su recogida por el paciente.

### Material y Métodos:

Se estudiaron 119 orinas recibidas en nuestro Servicio procedentes de pacientes trasplantados renales, que se recogen directamente en nuestro punto de extracciones evitando demoras por traslado desde los centros periféricos.

En todas se realizó el análisis introduciéndolas de forma secuencial primero en el analizador Urisys y después en el UF1000, ambos de Roche Diagnostics, siguiendo la sistemática habitual aunque obviando la criba previa de las muestras por el Urisys.

Todas se procesaron a su recepción y a las dos, cuatro y veinticuatro horas, manteniéndolas refrigeradas a partir del análisis de las cuatro horas.

Se comprobó la distribución no paramétrica de cada variable y se analizó la variación en los distintos tiempos estudiados con respecto al valor basal, mediante la prueba de los rangos de Wilcoxon en el programa estadístico SPSS 15.0.

### Resultados:

No se observaron variaciones significativas de los eritrocitos ni de los leucocitos entre los distintos tiempos estudiados, aunque en los leucocitos a las 24h se rozó la significación estadística ( $p=0.057$ ), incrementándose ligeramente su recuento en UF1000, pero no hubo cambios según Urisys.

La bacteriuria sólo cambia de forma significativa a las 24h, pero se encuentran niveles próximos a la significación estadística desde las dos horas ( $p=0.069$ ).

La detección de cilindros y células redondas aumenta a las 2h de la obtención de la orina.

Se producen incrementos significativos en la detección de cristales desde las dos horas, que son muy marcados a las 24h, lo que concuerda con lo descrito en otros estudios.

Sólo se producen incrementos significativos de pH a las 24h

### Conclusiones:

El análisis de la orina mediante sistemas automáticos es concordante en lo referente a variaciones de eritrocitos y leucocitos

A partir de las dos horas ya se encuentran cambios en elementos importantes para el diagnóstico clínico como los cilindros y las células redondas, probablemente por precipitación de elementos que confunden al sistema detector del UF1000 y por aumentar el tamaño de los leucocitos y confundirse con dichas células.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 362**

### EXCLUSIÓN DE LAS DIFERENTES CAUSAS DE HIPONATREMIA.CASO CLINICO.

*Autor/a/s:* ANA CALVENTE PEREZ, CATALINA RIOS QUESADA, DOLORES QUINTANILLA ALBACETE

*Centro de trabajo:* HOSPITAL PUERTA DEL MAR

*Provincia:* CADIZ

*Correo electrónico del primer firmante:* anacalvente@andaluciajunta.es

## Introducción:

La hiponatremia es el más frecuente de los trastornos electrolíticos. No sólo acompaña a numerosas enfermedades graves, sino que por sí misma puede producir daño cerebral permanente, demencia y muerte.

La hiponatremia puede ser causada por diferentes estados patológicos, tales como pérdidas de líquidos corregido con soluciones hipotónicas, diuresis incrementada con fármacos, diversas enfermedades endocrinas, insuficiencia cardíaca...

Una causa importante de hiponatremia severa es el SIADH

## Objetivos:

Establecer la importancia de las pruebas analíticas dentro de las exploraciones complementarias en el diagnóstico diferencial de alteraciones hidroelectrolíticas.

Poner en relieve la importancia de valorar adecuadamente las pruebas analíticas clásicas en pacientes de edad avanzada sin atribuir los valores patológicos a la edad.

## Material y Métodos y presentación del Caso:

Al paciente se le extrae sangre para analítica de bioquímica, coagulación y hemograma. Paciente de 82 años que acude a urgencias por presentar deterioro progresivo de su estado general.

Antecedentes: Dos caídas accidentales sucedidas un mes previo, con herida en cuero cabelludo que precisa sutura. Disfagia progresiva a sólidos y líquidos que ha ido empeorando. En los días previos a su ingreso refieren episodio autolimitado de diarreas y disminución de la diuresis.

La paciente ingresa con diagnóstico de ITU agravado por hiponatremia moderada (128 meq/l). Ésta última se atribuye a un posible SIADH provocado por la caída y golpe en la cabeza

## RESULTADOS:

Se solicita determinación de cortisol basal y ACTH:

- Hiper cortisolismo: 90.74  $\mu$ g/dl
- Hipersecreción de ACTH: 100 pg/ml

Se solicita TAC cerebral y RMN craneal por alta sospecha de proceso tumoral que quedó sin esclarecer.

- La paciente sufrió un importante deterioro metabólico, neurológico y arritmia cardíaca, debido en gran medida a la hiponatremia secundaria mantenida,
- Falleció en los días siguientes

## Conclusiones:

La hiponatremia en pacientes de edad avanzada suele atribuirse a procesos como deshidratación, tratamientos con diuréticos y deterioros del estado incipientes a la propia edad, pero en muchos casos enmascara importantes patologías.

La determinación hormonal y bioquímica permite valorar el estado hidroelectrolítico de un paciente, así como su afectación hormonal.

Si bien el diagnóstico definitivo se basaba en RMN, las pruebas clásicas de laboratorio aportan información esencial para la orientación, valoración, seguimiento y pronóstico de diversas patologías.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 367**

## COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS NEFELOMÉTRICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE CADENAS LIGERAS LIBRES DE INMUNOGLOBULINAS (KAPPA Y LAMBDA)

*Autor/a/s:* Luis Alberto Montero Rodríguez, Carolina Martínez Chincolla, Ignacio Pulido Letrán, Laura García-Heras Muñoz, Saud Tahsin Snafiri, Pilar García Muñoz; Ramona de los Angeles Silvestre Mardomingo

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Puerta de Hierro

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* ludwigvonmontero@hotmail.com

## Introducción:

La detección del componente monoclonal en el suero o en la orina de los pacientes es fundamental para establecer el diagnóstico de las gammopatías monoclonales. Las células plasmáticas además de inmunoglobulinas completas - compuestas por dos cadenas pesadas (G, M, A, D o E) y dos cadenas ligeras (kappa o lambda), producen aprox. un 40% de cadenas ligeras libres. Aunque la vida media de estas cadenas ligeras en el suero es mucho menor que la de las inmunoglobulinas completas se puede detectar su presencia en el suero incluso en sujetos normales. La detección de cadenas ligeras libres kappa y lambda en el suero de pacientes con enfermedad plasmaproliferativa monoclonal ha demostrado ser una herramienta clave en la monitorización y pronóstico de estos pacientes. El Grupo Internacional de Mieloma Múltiple ("International Working Group for Multiple Myeloma") ha incorporado la determinación de cadenas ligeras libres en las guías para el diagnóstico

de mieloma múltiple y de enfermedades relacionadas y como criterio para valorar la respuesta al tratamiento en estos pacientes. En particular la relación kappa/lambda libre permite discriminar entre pacientes con desórdenes monoclonales y pacientes en los que se presenta un aumento policlonal asociado o no a un fallo renal. Se han puesto a punto ensayos específicos para determinar los niveles séricos de estas cadenas ligeras libres por métodos nefelométricos o por ELISA, basados en la utilización de anticuerpos específicos que detectan epitopos presentes en regiones de las cadenas kappa o lambda que son solo accesibles cuando la cadena ligera correspondiente no está unida a la cadena pesada.

## Objetivos:

Comparación de dos métodos nefelométricos para determinar cadenas ligeras libres kappa y lambda en suero utilizando en un caso anticuerpos policlonales (Freelite TM Binding Site) y en otro anticuerpos monoclonales (N-latex FLC de Siemens).

## Material y Métodos:

Se analizaron sueros procedentes tanto de sujetos sanos (control) o con un aumento policlonal de inmunoglobulinas y sueros de pacientes con una paraproteinemia monoclonal diagnosticada previamente. La sensibilidad clínica y la especificidad se valoraron por comparación con electroforesis en gel de agarosa (EF) e inmunofijación (IF). Rangos de referencia kappa libre: Binding Site: 3,3-19,4 mg/l; Siemens: 6,7-22,4 mg/l; Rangos de referencia lambda libre: Binding Site: 5,7-26,3 mg/l; Siemens: 8,3-27 mg/l. Rango de referencia cociente kappa/lambda: Binding Site: 0,26-1,65; Siemens: 0,31-1,56:

## Resultados:

Las concentraciones de kappa y lambda libres determinadas por ambos métodos fueron comparables tanto en las muestras control (dentro del rango de referencia) como en las que mostraron niveles séricos de kappa y lambda libres por encima del rango de normalidad sin detectarse la presencia de paraproteinemia por EF y/o IF (Kappa libre: 26.4 $\pm$ 3.6 Binding Site vs. 26.5 $\pm$ 2.7 mg/l Siemens. Lambda libre: 24 $\pm$ 3.1 Binding Site vs. 29 $\pm$ 5.8 Siemens; N=57, t-test, p>0.05). En ambos casos la correlación fue significativa: Rho de Spearman: 0.89 para kappa y 0.809 para lambda; Correlación de Pearson: 0.906 para kappa y 0.901 para lambda; p<0.01. Sin embargo, en las muestras procedentes de pacientes en los que se demostró la presencia de una paraproteína monoclonal por EF y/o IF, las concentraciones de cadenas libres determinadas por ambos métodos presentaron una dispersión mucho mayor (especialmente significativa para valores muy altos, por encima de 100 mg/l). En general, aunque los coeficientes de correlación son aceptables (Rho de Spearman: 0.788 para kappa y 0.723 para lambda; correlación de Pearson: 0.862 para kappa y 0.71 para lambda), las concentraciones determinadas por el método de Siemens fueron significativamente inferiores a las obtenidas por el método de Binding Site (Kappa libre: 785 $\pm$ 362 mg/l Binding Site vs. 141 $\pm$ 35 Siemens; Lambda libre: 346 $\pm$ 107 mg/l Binding Site vs. 161 $\pm$ 31 mg/l Siemens). Ambos métodos permitieron detectar el componente monoclonal en todos los casos estudiados (comprobada por EF e IF).

## Conclusiones:

Se ha demostrado una buena correlación entre las concentraciones de cadenas kappa y lambda libres determinadas por ambos métodos para valores séricos bajos, normales y/o patológicos por debajo de 100 mg/l. Sin embargo los coeficientes de correlación son peores en muestras muy patológicas. En ambas técnicas se han encontrado muestras patológicas con concentraciones muy elevadas en las que se obtuvieron valores falsamente reducidos debido al exceso de antígeno ("hook effect", demostrado tras proceder a su dilución manual). En este sentido, aunque el protocolo de la técnica de Siemens indica que incluye protección frente a la obtención de falsos negativos debido a un exceso de antígeno (con una valoración pre-reacción) hemos encontrado algunas muestras en las que se evidenciaba claramente este efecto. En resumen, la concordancia entre la sensibilidad y especificidad de ambos métodos es comparable, si bien se observan diferencias entre ambos métodos sobre todo en sueros muy patológicos en los que la concentración de cadenas libres es muy elevada.

# GENÉTICA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 003

## AVANCES Y MEJORAS EN EL DIAGNÓSTICO DE ALTERACIONES CROMOSÓMICAS Y GENÉTICAS.

*Autor/a/s:* IZASKUN MEZO PEREZ; VANESSA FERNÁNDEZ RODRÍGUEZ; IZASKUN SAINZ ALONSO; ZALOA LARREATEGUI LAISECA; MARCOS FERRANDO; ANTONIO PELLICER

*Centro de trabajo:* IVI BILBAO

*Provincia:* BIZKAIA

*Correo electrónico del primer firmante:* izaskun.mezo@ivi.es

### Introducción:

Uno de los retos en medicina reproductiva no es solo generar embriones de buena calidad, sino también conseguir que estos embriones sean cromosómicamente normales gracias al diagnóstico genético preimplantacional (DGP).

Esta técnica fue desarrollada para poder seleccionar embriones libres de enfermedades genéticas en un estadio previo a la implantación del embrión en la mujer. La mayor limitación del DGP es la biopsia del embrión para el análisis de un máximo de trece cromosomas; por eso los avances actuales defienden la utilización de técnicas que permitan estudiar simultáneamente los 23 pares de cromosomas (microarrays).

Existe una técnica en estudio, la metalobómica embrionaria, que permite de forma no invasiva, sin extraer células al embrión, analizar si los embriones están libres de enfermedades o no.

### Objetivo:

Analizar los resultados obtenidos en nuestra clínica en el año 2010 – 2011 en pacientes que se hayan sometido a ciclos de ICSI en los que se haya realizado un ciclo de DGP utilizando las técnicas de FISH, PCR y aCGH.

### Metodología:

DIAGNOSTICO GENETICO PREIMPLANTACIONAL (DGP)

Es el diagnóstico de alteraciones genéticas y cromosómicas en los embriones, antes de su implantación. Consiste en un tratamiento de Fecundación in Vitro (FIV) mediante Microinyección Espermática (ICSI), para después extraer a cada embrión 1 o 2 de sus células en su tercer día de desarrollo antes de su transferencia al útero de los embriones que se encuentran libres de la enfermedad que se estudia.

Existen dos tipos de diagnóstico de las alteraciones cromosómicas y genéticas:

#### 1. FISH

Se analizan los núcleos marcando sus cromosomas con sondas fluorescentes, se pueden estudiar un máximo de 13, aunque rutinariamente se suelen examinar 9. Mientras, el resto del embrión sigue en cultivo para ser transferido en cuanto se conozca el diagnóstico.

Como ya es sabido en pacientes a partir de 40 años las anomalías cromosómicas en los embriones así como los abortos de repetición son elevados. En nuestro centro se aconseja esta técnica a este tipo de pacientes, además de pacientes con translocaciones o FISH de espermatozoides anormales

#### 2. PCR

Consiste en la amplificación de secuencias de ADN para obtener un nº elevado de copias. Nos permite determinar las mutaciones de la secuencia de los genes que originan enfermedades genéticas como las autosómicas recesivas y las autosómicas dominantes.

### Microarrays:

Son chip de DNA, basados en la síntesis o fijación de sondas que representan los genes. Miden el nivel de hibridación entre la sonda específica (probe) y la muestra a analizar (target). Todo ello mediante fluorescencia midiéndose por análisis de imagen.

La aplicación de los microarrays es muy amplia, desde clasificación molecular en enfermedades complejas, a predicción de respuesta a un tratamiento, detección de mutaciones y polimorfismos de un único gen...

Al igual que el Fish, los microarrays estarían indicados en abortos de repetición, fallos de implantación y factor masculino severo. Al igual que en las técnicas anteriormente citadas, también es necesaria la sustracción de una o dos células al embrión, pero con la diferencia de que los microarrays permiten estudiar los 23 pares de cromosomas, dando un diagnóstico más completo, para así solo transferir los embriones libres de patologías.

### Metabolómica embrionaria:

Técnica experimental que analiza los metabolitos presentes en el medio de cultivo donde se encuentra el embrión en desarrollo.

Los metabolitos, presentes en todos los organismos biológicos, son el último producto

de expresión de los genes. Analizando estos metabolitos del medio de cultivo en el que ha estado un embrión, se pueden detectar las anomalías cromosómicas sin necesidad de biopsiar el embrión.

Al ser un método no invasivo, mejoraríamos la calidad embrionaria, aumentando así sus posibilidades de implantación y gestación.

### Resultados:

En 2010 tuvimos 82 casos de Fish, analizándose 352 embriones, siendo sanos 117 (33,23%). En 2011 de los 95 casos de Fish, en los que se analizaron 416 embriones, 106 fueron sanos. (25,48%).

En el año 2010 la enfermedad más analizada en nuestro centro fue Síndrome de Steinert seguido de Hemofilia B y Neurofibromatosis Tipo I.

Por su parte en el año 2011, la enfermedad más analizada fue Neurofibromatosis además de Síndrome de Steinert, Huntington y Hemofilia B.

En 2011 de los 9 casos de aCGH, se analizaron, 47 embriones, siendo sanos 9 ( 19,14%).

### Conclusión:

Se puede concluir que tanto las técnicas de FISH, PCR y aCGH aún siendo invasivas, siguen siendo efectivas en la obtención de embriones sanos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 019

## ESTANDARIZACIÓN E IMPLEMENTACIÓN EN EL LABORATORIO DE REFERENCIA DE LA DETERMINACIÓN DE MUTACIONES DE EGFR EN CÁNCER DE PULMÓN NO MICROCÍTICO

*Autor/a/s:* Robles Solano, Maitane; Gil Galochino, M<sup>a</sup> Carmen; Viedma Beltrán, Adriana

*Centro de trabajo:* Clínica Universidad de Navarra

*Provincia:* NAVARRA

*Correo electrónico del primer firmante:* mairobles@unav.es

### Introducción: y Objetivos:

La Unidad de Genética Clínica de la Clínica Universidad de Navarra es uno de los dos centros de referencia en España que participa en un proyecto puesto en marcha por la empresa farmacéutica AstraZeneca, para la determinación del biomarcador EGFR en pacientes con cáncer de pulmón.

El gen EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico) codifica una proteína de membrana. En respuesta a factores de crecimiento se dimeriza y, tras fosforilación, se inicia una cascada de señalización que lleva a la proliferación y diferenciación celular.

Estudios recientes en cáncer pulmonar de células no pequeñas (Non-Small Cell Lung Cancer, NSCLC) han demostrado que algunos pacientes son portadores de mutaciones somáticas en dicho gen. Estas mutaciones se correlacionan con la eficacia de ciertos inhibidores de la tirosinaquinasa (TKI), tales como Gefitinib y Erlotinib, en el tratamiento de algunos NSCLC. Se ha comprobado que las mutaciones activadoras se correlacionan con el tratamiento eficaz, mientras que al menos otra mutación (T790M) se correlaciona con la resistencia a los TKI.

### Material y Métodos:

Para realizar esta determinación el oncólogo remite la muestra al centro de referencia más cercano, donde se procede a la extracción y análisis del DNA tumoral del paciente. Dicho análisis se realiza con el kit TheraScreen EGFR29, que permite detectar las ocho mutaciones más prevalentes descritas hasta el momento en el gen del EGFR, incluida la mutación que confiere resistencia al tratamiento. Los resultados, tras ser validados por el centro de referencia, son enviados al oncólogo, convirtiéndose éstos en una importante herramienta para elegir el tratamiento adecuado.

El tipo de muestra utilizado es ADN genómico obtenido de muestras del tumor pulmonar; bien a partir de tejido incluido en parafina, o bien a partir de extensiones de punciones citológicas. Previamente a la realización del test, el patólogo deberá valorar la presencia de células tumorales en la muestra y seleccionar la región más apropiada.

El análisis es un ensayo de PCR en tiempo real basado en la tecnología DxS Scorpions®, una prueba de diagnóstico in vitro muy sensible que permite detectar mutaciones en el EGFR sobre un fondo de ADN genómico nativo, siempre que haya al menos un 1% de ADN mutado.

### Resultados:

Se analizan 4.557 muestras de cáncer de pulmón no microcítico y la prevalencia de las diferentes mutaciones en este gen, expresándose estos resultados como EGFR mutado (especificando la mutación) o EGFR nativo (wild type).

## Conclusiones:

El estado de mutación del ADN del tumor de un paciente puede, por lo tanto, servir como herramienta útil para decidir cuál es el régimen terapéutico más apropiado, optimizando los recursos sanitarios y evitando tratamientos más tóxicos con efectos secundarios relevantes.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 024

### EL DIAGNÓSTICO MOLECULAR PRENATAL CON TECNOLOGÍA LUMINEX®

*Autor/a/s:* Gustavo Leonardo Ayala Álvarez, Raquel Gimeno Navarro, Asunción Martínez Fernández, Sandra García Herrero, José Antonio Martínez Conejero, Inmaculada Campos Galindo, Carmen Rubio Llueta

*Centro de trabajo:* IVIOMICS

*Provincia:* VALENCIA

*Correo electrónico del primer firmante:* glayala@gmail.com

#### Introducción:

Hemos utilizado la tecnología Luminex® y el desarrollo del kit para diagnóstico BACs-on-Beads™ para la detección de ganancias y pérdidas (incluidos nueve síndromes de microdelección) en el ADN cromosómico de muestras no cultivadas como son líquido amniótico y tejidos fetales.

#### Objetivo:

Investigar el uso de BACs-on-Beads™ en Luminex® para mejorar nuestros estándares de trabajo en el diagnóstico prenatal rápido a partir de muestras sin cultivar con el fin de acentuar la fiabilidad, sensibilidad y especificidad de los resultados del ensayo. Para ello hemos validado la tecnología Luminex® con métodos convencionales como confirmación diagnóstica. El análisis se basa en la inmovilización de sondas de ADN generadas a partir de una selección de cromosomas artificiales bacterianos amplificados con PCR en microesferas codificadas mediante fluorescencia. Es una tecnología citogenética molecular comparable a la Hibridación "in situ" Fluorescente en formato líquido.

#### Material y Métodos:

El estudio se realizó con un número total de 450 muestras, 280 de líquido amniótico sin cultivar y 170 de tejido fetal sin cultivar (vellosidad corial y restos abortivos). Para la extracción de ADN utilizamos el kit 'QIAamp DNA Mini Kit' de QIAGEN. La lectura de datos para el ensayo de BACs-on-Beads™ de Perkin Elmer® se realizó con el Luminex® 200TM. La interpretación de datos se realizó con el Software 'BoBsoft 1.0'. Utilizamos técnicas convencionales de análisis cromosómico, como son el estudio de cariotipo, la FISH (Hibridación "in situ" Fluorescente) y el Microarray de alta densidad (aCGH) como métodos de verificación.

#### Resultados y Conclusiones:

La posibilidad de realizar el análisis en las muestras directamente sin necesidad de cultivo nos proporciona una disminución de tiempo, fundamental para el diagnóstico prenatal, y una disminución de costes derivados.

Resultados: de los 450 casos, obtuvimos una sensibilidad del 100% y una especificidad del 99,1% (0,9% no informativo para cromosomas sexuales). Un 12,4% de los casos se presentaron con anomalías cromosómicas y del 5,6% de los cariotipos convencionales no se obtuvieron resultados por fallo en el crecimiento.

Concluimos que con la aplicación del ensayo de BACs-on-Beads™ y la tecnología de Luminex® como alternativa de diagnóstico, no sólo logramos confirmar la fiabilidad de éstos, sino que además de la detección de aneuploidías también hemos detectado anomalías a nivel submicroscópico que los métodos análogos convencionales no son capaces de detectar, como son los síndromes de: Angelman, Cri du chat, Cat eye\* (\*Fuera del kit de diagnóstico, detectado en nuestro laboratorio), DiGeorge, Langer-Giedion, Miller-Dieker, Prader-Willi, Smith-Magenis, Williams-Beuren y Wolf-Hirschhorn, confirmando así la importancia del desarrollo de la Biología Molecular en el campo diagnóstico prenatal.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 040

### GENOTIPOS ASOCIADOS A HEMOCROMATOSIS Y ALTERACIÓN DE PARÁMETROS BIOQUÍMICOS

*Autor/a/s:* Torres Carrasco Elena, Ocaña Pérez Esther, Peña Casas Ana M<sup>a</sup>, Vera Vega Alicia, García García Juan, Vega Vargas Concepción.

*Centro de trabajo:* Complejo Hospitalario de Jaén. UGC Laboratorio y Alergia

*Provincia:* Jaén

*Correo electrónico del primer firmante:* etc696@gmail.com

#### Introducción:

La hemocromatosis hereditaria (HH) es un desorden hereditario en el que debido a una

hiperabsorción de hierro en la mucosa gastrointestinal se produce un depósito excesivo de hierro en distintos tejidos provocando daño tisular. La HH más prevalente, tipo I, se asocia a mutaciones del gen de la hemocromatosis (HFE). La más frecuente es la mutación C282Y en forma homocigota, aunque también pueden aparecer las mutaciones C282Y/H63D o C282Y/S65C en forma heterocigota doble en un porcentaje más pequeño de pacientes. Las recomendaciones para el estudio del gen HFE son: 1) Presentar un Índice de Saturación de Transferrina (IST) > 45 % y/o 2) una ferritina > 400 ng/ml, en dos ocasiones separadas un mínimo de 3 meses.

#### Objetivo:

Determinar la frecuencia de las mutaciones del gen HFE en nuestro hospital y evaluar la relación entre los niveles de ferritina e IST con el tipo de mutación.

#### Material y Métodos:

Se analizaron 908 pacientes con sospecha clínica de hemocromatosis, derivados al Laboratorio de Biología Molecular durante los años 2007-2010. Se realizó el estudio genético del gen HFE (mutaciones C282Y, H63D y S65C, Lightcycler 2.0), y se midieron los niveles de hierro, ferritina y transferrina (Olympus AU5400) y se calculó el IST. Los pacientes se distribuyeron en cuatro grupos en función de los resultados genéticos obtenidos (tabla 1). El análisis estadístico de los datos se realizó con el programa SPSS 15.0.

Tabla 1. Distribución de genotipos HFE

GRUPO	MUTACIONES		
	C282Y	H63D	S65C
1		hom/wt/wt	
		het/het/wt	
		het/wt/het	
2		wt/wt/wt	
		wt/het/wt	
		wt/wt/het	
3		wt/hom/wt	
		wt/het/het	
4		het282	

#### Resultados:

Se ha detectado la presencia de mutaciones en el gen HFE asociadas a HH en el 7,26 % de los casos. La forma genética más frecuente fue la heterocigota compuesta C282Y/H63D (66,66%), seguida de la homocigota C282Y (19,70%) y la doble heterocigota C282Y/S65C (6,06%). Cuando analizamos los niveles de ferritina e IST en los diferentes grupos encontramos los siguientes resultados:

El grupo 1 presentó valores de IST >45% (valor medio 54 %) y ferritina > 400ng/mL (405 ng/ml), mientras que el resto de grupos mostraron un IST <45% (grupo 2, 39%; grupo 3, 41% y grupo 4, 37%) y ferritina <400ng/mL, excepto el grupo 2 que presentó los niveles de ferritina más altos a pesar de no ser individuos genéticamente predispuestos (grupo 2, 441 ng/ml; grupo 3, 367 ng/ml y grupo 4, 313 ng/ml). El valor de IST más alto se detectó en el grupo 1 (p<0,05). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en los niveles de ferritina entre los diferentes grupos.

#### Conclusiones:

El genotipo C282Y/H63D asociado a HH es el más frecuente en nuestra población. El IST es un parámetro útil para el cribado de HH, mientras que los niveles de ferritina fueron similares en los 4 grupos. De acuerdo con los resultados, sería conveniente revisar los criterios de adecuación de las peticiones para el estudio genético de HH.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 041

### GENOTIPO DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C EN LA PROVINCIA DE JAEN

*Autor/a/s:* Torres Carrasco Elena, Ocaña Pérez Esther, Peña Casas Ana M<sup>a</sup>, Vera Vega Alicia, García García Juan, Vega Vargas Concepción.

*Centro de trabajo:* Complejo Hospitalario de Jaén. UGC Laboratorio y Alergia

*Provincia:* Jaén

*Correo electrónico del primer firmante:* etc696@gmail.com

#### Introducción:

La variabilidad genética del virus de la hepatitis C (VHC) ha dado lugar a la clasificación de 6 genotipos con distintos subtipos. La prevalencia de los diferentes genotipos varía según el área geográfica estudiada. La importancia de la determinación del genotipo del VHC se basa en la orientación terapéutica. Así, los genotipos 1 y 4 presentan una menor respuesta al tratamiento y requieren una mayor duración terapéutica. Los últimos datos sugieren que la prevalencia del genotipo 1a, 3 y 4 se ha incrementado en España en los

últimos años debido a la aparición de dos epidemias. La primera involucró la dispersión de los genotipos 1a y 3, y la segunda la diseminación del genotipo 4.

#### Objetivo:

Poner de manifiesto los cambios en la prevalencia de los genotipos del VHC en nuestra zona.

#### Material y Métodos:

Se realizó un análisis retrospectivo de los resultados de genotipado del VHC en muestras séricas extraídas en nuestro laboratorio a sujetos diagnosticados de infección por VHC durante el periodo 2007-2010. El número de pacientes estudiados fue 587. La extracción de ARN se llevó a cabo mediante el sistema COBAS Ampli-Prep (Roche Diagnostic). La transcripción inversa, amplificación e hibridación inversa se realizó con Linear Array HCV genotyping test, Roche Diagnostic). Se calculó la prevalencia de los genotipos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 en nuestra población. Los resultados de las muestras se agruparon teniendo en cuenta la fecha de nacimiento de los pacientes. La comparación estadística de las medias se llevó a cabo mediante el test t-Student, aceptando  $p < 0.05$  como nivel de significación.

#### Resultados:

La distribución de genotipos del VHC en nuestra población fue, para el genotipo 1, 62.86%; coinfección genotipos 1+2, 0.17%; genotipo 2, 2.04%; genotipo 3, 19.59% y genotipo 4, 15.33%. Considerando la fecha de nacimiento de los pacientes, las prevalencias de los genotipos 3 y 4 fueron significativamente mayores entre los nacidos después de 1950, 21.05% para el genotipo 3 y 16.54% para el 4 frente al 3.7% y 3.7%, respectivamente, antes de 1950. En cambio, la del genotipo 1 descendió del 90.74%, antes de 1950, al 60.15%.

#### Conclusiones:

La distribución de los diferentes genotipos en nuestra población fue acorde a la referida en la bibliografía (Echevarría et al, 2006) sobre la media estatal, salvo un ligero aumento del genotipo 4 (15.33% vs 11.6%). Nuestros resultados corroboran las Conclusiones: llevadas a cabo por el grupo de investigación del Centro Nacional de Microbiología, que indica que en España han sucedido dos últimos episodios de importación de cepas del VHC, el primero supuso la diseminación de cepas de los genotipos 1a y 3, y el segundo supuso la Introducción: de cepas del genotipo 4, de ahí la diferencia encontrada entre los genotipos de los pacientes antes y después de 1950.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 046**

### MODELO ECTÓPICO DE FORMACIÓN ÓSEA EN TEJIDO SUBCUTÁNEO CON CÉLULAS MESENQUIMALES.

*Autor/a/s:* ISABEL CUBILLO MORENO, ANDER ABARRATEGUI LOPEZ, ISABEL MIRONES AGUILAR, ESTHER RINCON GILA, MIGUEL ANGEL RODRIGUEZ MILLA, ARANTZAZU ALFRANCA GONZALEZ, JAVIER GARCIA CASTRO

*Centro de trabajo:* INSTITUTO DE SALUD CARLOS III

*Provincia:* MADRID

*Correo electrónico del primer firmante:* icubillo@isciii.es

#### Introducción:

Las células progenitoras mesenquimales, dado su potencial de diferenciación, son de gran interés en aplicaciones clínicas necesitadas de regeneración ósea. Igualmente estas células se han descrito como generadoras del nicho medular de las células madre hematopoyéticas de los cultivos. Para ellos se han utilizado diversas combinaciones de factores osteoinductores y cerámicas biocompatibles.

#### Objetivos:

El principal objetivo fue desarrollar un modelo in vivo para estudiar la capacidad de diferenciación ósea de los cultivos mesenquimales primarios, basada en su potencial de generación de nicho.

#### Materiales y métodos:

En condiciones estériles se depositan en un tubo 0,1g de gránulos cerámicos bifásicos HA-TCP (MBCP, BIOMATLANTE). Se realiza un lavado con DMEM completo y se añaden 1x10<sup>6</sup> células en suspensión. Se centrifuga (1500 rpm, 5min) y se cultiva in vitro durante 2 días. Se retira el medio, se añaden los factores de crecimiento y se forma un gel de trombina-fibrinógeno para facilitar la implantación. El compuesto cerámica-células se implanta en tejido subcutáneo de ratón y los animales se sacrifican a los 2 meses. Las muestras se extraen, se fijan, se descalcifican y se procesan para su posterior inclusión en parafina, seccionado, tinción e inmunodetección.

#### Resultados y Conclusiones:

El modelo descrito permite la formación de tejido óseo y medula ósea bien desarrollada. Por tanto, la localización de las células implantadas permite dilucidar en qué procesos de neoformación tisular han participado (ej. tejido óseo, tejido adiposo, células intersticiales

de la médula, etc) lo que indica la potencialidad de las células a estudio. Adicionalmente, la formación de osículos ectópicos permite otro tipo de estudios básicos de aplicación, por ejemplo, en cáncer. Nuestro grupo está estudiando también el "homing" de leucemias humanas en la medula ósea neoformada así como desarrollo de modelos ectópicos de osteosarcoma.

Financiado por Séptimo Programa Marco Europeo (FP7 EuroNanoMed Projects: Acronym REBONE).

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 064**

### DETECCIÓN DE MUTACIONES EN EL GEN P53 EN LA LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA

*Autor/a/s:* Jimenez Marti Laura; Cabezas Fernandez Sandra; Lee Eriong; Colomer Dolors

*Centro de trabajo:* Unidad Hemato-oncología, Centro Esther Koplowitz, IDIBAPS

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* Lauramarti84@gmail.com

#### Resumen:

La leucemia linfática crónica (LLC) es la forma más frecuente de leucemia en los países occidentales. La incidencia de la LLC aumenta con la edad, siendo en personas de más de 80 años de 30 casos por 100.000 habitantes. La edad media de los enfermos en el momento del diagnóstico es de 65 años y cerca de un tercio tiene más de 70 años. El pronóstico de la LLC es sumamente heterogéneo, de forma que al lado de enfermos cuya supervivencia es de tan sólo unos meses hay otros cuya esperanza de vida no se ve modificada por la enfermedad. Aproximadamente el 50% de los enfermos con LLC presentan anomalías citogenéticas. Las más frecuentes son la trisomía 12 y deleciones de los cromosomas 13, [del 13q12-14, 13q14-22], 6 [del 6(q21,q23)], 11 (del 11q) y 17 (del 17p).

El gen p53 es el más frecuentemente mutado en todos los cánceres. Es un gen de los denominados supresores del crecimiento tumoral, aunque también puede actuar como oncogen ya que se sabe que la proteína p53 mutante anómala, puede adquirir capacidad de transformación celular por sí misma. Otra función importante es la de intervenir en la reparación del DNA por lo que se denomina "guardián del genoma". Se encuentra localizado en el brazo corto del cromosoma 17 en la banda 17p 13.15. Las mutaciones de p53 se han asociado con peor pronóstico. En la LLC las mutaciones de p53 se hallan en el 4-37% de los casos, aumentando en los casos resistentes a tratamiento y en recaídas. Generalmente se asocian a deleciones de 17p.

#### Objetivo:

Analizar la presencia de mutaciones en los exones 4 a 8 del gen p53 en un caso que presenta una deleción de 17p mediante la técnica de FISH en el 49 % de las células.

*Metodo:* Se ha analizado la presencia de mutaciones en el ADN extraído de linfocitos tumorales obtenidos de sangre periférica de este paciente afecto de LLC. Se han amplificado los exones 4 al 9 del gen p53 mediante PCR y se ha realizado la secuenciación directa del producto amplificado para detectar las mutaciones.

#### Resultados:

Se ha amplificado el ADN para los exones 4 al 9 del gen p53 mediante la realización de 4 reacciones de PCR distintas específicas para el exón 4, el exón 5-6, el exón 7 y el exón 8-9. Los productos de amplificación se han purificado mediante EXoSAP y se ha realizado la secuenciación directa de estos productos. Al analizar las secuencias se ha observado la presencia de un cambio de base T por A en la posición 12598 que implica el cambio del aminoácido 197 de una valina por un ácido glutámico (12598T>A:197V>V/E).

#### Conclusiones:

La técnica de PCR y posterior secuenciación es un método válido y fiable para la detección de mutaciones en el gen p53, que permite validar si la deleción de 17p está asociada a mutaciones de p53.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 070**

### UTILIZACIÓN DEL CITOMETRO ACÚSTICO ATTUNE PARA LA CUANTIFICACIÓN DE PROLIFERACIÓN Y APOPTOSIS EN DISTINTAS SUB-POBLACIONES CELULARES DE NEOPLASIAS LINFÓIDES B

*Autor/a/s:* Roldán Moreno, Jocabed; Colomer, Dolors; Pérez, Patricia; Roué, Gaël.

*Centro de trabajo:* Centre Esther Koplowitz, IDIBAPS

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* jroldan@clinic.ub.es

#### Introducción:

La determinación de la actividad de potenciales fármacos antitumorales en cultivos ex vivo

de neoplasias linfoides B se realiza mediante la cuantificación simultánea de parámetros asociados a la proliferación celular y a la muerte celular programada (apoptosis). Los ensayos de screening de nuevos fármacos requieren la posibilidad de analizar estos parámetros simultáneamente, con gran resolución y velocidad de procesado. El nuevo citómetro acústico Attune (Applied Biosystems) posee un sistema de focalización acústica, permitiendo una velocidad de adquisición de 25 a 1000  $\mu$ /min (captura de hasta 20,000 eventos/sec), con un modo de alta sensibilidad y 2 fuentes de excitación (láseres sólidos a 405nm y 488nm), permitiendo la detección simultánea de 6 colores además de los parámetros de side -forward scatters, con compensación espectral ajustable automáticamente.

#### Objetivos:

Nuestro objetivo consistió en poner a punto el co-marcaje de receptores de membrana, con sondas intracelulares de proliferación y de apoptosis en cultivos ex vivo de leucemia linfática crónica B (LLC), linfoma con células del manto (LCM) y linfoma folicular (LF), mediante el citómetro acústico Attune.

#### Materiales y Métodos:

un panel de 5 líneas celulares y 5 cultivos primarios (células mononucleadas de sangre periférica, PBMCs) de pacientes de LLC, LCM y LF se trataron durante 24 o 48 horas con distintas drogas antitumorales y se valoró el efecto antiproliferativo y proapoptótico de cada tratamiento mediante marcaje de ciclo celular (Vybrant DyeCycle Violet, Invitrogen), síntesis proteica (CellTrace Violet, Invitrogen), potencial de membrana mitocondrial (DiOC6(3), Molecular probes) producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) (DHE, Molecular probes), ectoexposición de fosfatidilserina (Anexina V, BenderMedsystems), activación de caspasas ejecutoras (Caspase -3/-7 CellEvent, Invitrogen) y permeabilidad de la membrana plasmática (yoduro de propidio/Live-Dead Red and Aqua dyes Invitrogen). Además, para distinguir las diferentes sub-poblaciones presentes en los cultivos primarios, estas muestras fueron marcadas simultáneamente con anticuerpos dirigidos contra marcadores de membrana como son el CD3 (linfocitos T), CD56 (células NK), CD19/CD5 (linfocitos B tumorales) y CD20/CD10 (linfocitos B de centro germinal).

#### Resultados:

los diferentes marcadores utilizados nos permitieron detectar, con buena correlación, distintas fases del proceso de parada de proliferación y entrada en apoptosis inducidas por los agentes analizados, tanto en las líneas celulares como en los cultivos primarios. Mediante el uso del laser violeta (405 nm) del citómetro Attune, hemos podido discriminar con mayor resolución las distintas poblaciones presentes en los cultivos primarios por side y forward scatters. Además, la focalización acústica de las muestras y el uso de los dos láseres violeta y azul (488 nm) nos permitieron detectar en tiempo reducido (<1 min/muestra) y con mayor resolución hasta 5 parámetros celulares relacionados con respuesta a fármacos, en varias poblaciones celulares. Además la alta velocidad de adquisición del citómetro Attune reduce notablemente el tiempo necesario para el análisis de poblaciones minoritarias como es el caso de las células NK.

#### Conclusiones:

el uso del citómetro acústico Attune, dotado del laser violeta 405 nm, demostró ser de gran utilidad y fiabilidad para la determinación de la actividad anti-tumoral de varios fármacos con mecanismos de acción diversos, en muestras primarias y líneas celulares de neoplasias linfoides B. Estos estudios preliminares son primordiales para la evaluación pre-clínica de posibles tratamientos para estas entidades, muchas de ellas siendo incurables en la actualidad.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 071**

### ANÁLISIS DE MUTACIONES EN EL DOMINIO QUINASA DEL GEN ABL-1

*Autor/a/s:* Cabezas Fernández Sandra; Jimenez Laura; Martinez Sandra; Colomer Dolors

*Centro de trabajo:* Unidad de Hempatopatología, Hospital Clínic i Provincial; Fundació Clínic

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* scabezas@clinic.ub.es

#### Introducción:

El cromosoma Filadelfia es una de las anomalías genéticas más común presente en leucemias y se debe a la translocación entre los cromosomas 9 y 22 t(9;22). En esta translocación el gen ABL1 en el cromosoma 9 se yuxtaponen al gen BCR en el cromosoma 22 dando lugar a la formación de un gen de fusión quimérico BCR/ABL1. Esta translocación se detecta en más del 95 % de las leucemias mieloides crónicas (LMC), en el 25–30% de la leucemia linfoblástica aguda del adulto (LAL) y en el 2–5% de las LAL infantiles.

El imatinib, un inhibidor de tirosina quinasa, es el tratamiento estándar de los pacientes con LMC en fase crónica y recientemente se están ya utilizando dos inhibidores más potentes, el nilotinib y el dasatinib.

La resistencia al tratamiento es debida muchas veces a la adquisición de mutaciones en el dominio quinasa del gen ABL1, siendo la mutación T315I resistente a todos los inhibidores de quinasa que existen hoy en día en el mercado.

#### Objetivo:

Realizar un estudio de mutaciones en el dominio quinasa del gen ABL1, en un paciente diagnosticado de LAL Filadelfia positivo durante el tratamiento.

#### Métodos:

Se ha extraído RNA de muestras secuenciales de un paciente diagnosticado de leucemia linfoblástica B con la t(9;22)(q34;q11.2), BCR-ABL1 mediante Trizol y posteriormente se ha realizado el cDNA. Este cDNA se ha utilizado para realizar el estudio de secuenciación mediante el método Sanger. Las mutaciones se han analizado mediante el programa informático Mutation surveyor.

#### Resultados:

El paciente fue tratado inicialmente mediante el protocolo estándar de inducción con: vincristina, daunorubicina, prednisona, imatinib y quimioterapia intratecal seguido de un protocolo de consolidación con mercaptopurina, metotrexate, citarabine, etoposido, imatinib y quimioterapia intratecal consiguiendo una respuesta completa. A los 6 meses, justo antes de un trasplante, se objetiva presencia de enfermedad. En este momento se realiza un estudio mutacional y se detecta la mutación E255K, se trata con dasatinib y se vuelve a realizar el estudio mutacional detectándose la mutación T315I. mediante PCR cuantitativa (técnica más sensible) se comprueba que la mutación T315I ya estaba presente en la recaída

#### Conclusiones:

Se demuestra que este paciente presenta las mutaciones E255K y T315I y que al tratar con dasatinib, este fármaco es capaz de inhibir la mutación E255K pero no es efectiva para los casos que presentan la mutación T315I.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 104**

### ESTUDIO GENÉTICO DE LA POBLACIÓN HEMOFÍLICA EN ANDALUCÍA

*Autor/a/s:* Lagarda-Ortiz Lourdes, Romero María Luisa, Abad-Molina Cristina, Fernández-Chamorro A, Milán María Luisa, Pérez Rosario, Núñez Ramiro, Núñez-Roldán Antonio, García-Lozano José Raúl

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Virgen del Rocío

*Provincia:* Sevilla

*Correo electrónico del primer firmante:* azabau@vodafone.es

#### Introducción:

La hemofilia es una enfermedad genética causada por el déficit de los factores VIII (hemofilia A) y IX (hemofilia B) de la coagulación de la sangre. Está ligada al cromosoma X de forma que las mujeres transmiten la enfermedad y los hombres la padecen.

#### Objetivo:

Conocer las mutaciones responsables de la enfermedad en los pacientes hemofílicos que hay en Andalucía e identificar a las mujeres portadoras con el fin de prevenir la enfermedad en nuestra Comunidad.

#### Material y Métodos:

En este estudio se han incluido 1133 pacientes de 345 familias de hemofilia A y 182 pacientes de 54 familias de hemofilias B. Para la identificación de las mutaciones se estudió un varón de cada familia. La extracción de ADN se realizó por QIAGEN®, y los exones amplificados mediante PCR se secuenciaron en un equipo "CEQ 8000" de Beckman Coulter

#### Resultados:

En 19 familias con hemofilia A no se identificó la mutación (5,5%). En las familias con mutación identificadas se realizaron 608 estudios de portadora, de las cuales 394 fueron portadoras (65%) y 214 no portadoras (35%). En las familias con hemofilia B, en 4 no se identificó la mutación (7,4%). En las familias con mutación, se realizaron 93 estudios de portadoras, de las cuales 58 fueron portadoras (62%) y 35 no portadoras (38).

#### Conclusiones:

El estudio de mutaciones permite realizar el cribado de mujeres portadoras en un 92-94% de las familias con hemofilia en Andalucía, y con ello prevenir y realizar el diagnóstico precoz de la enfermedad en las mujeres en edad fértil a través de diagnóstico prenatal o pre-implantacional.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 121**

### DIAGNOSTICO GENETICO PREIMPLANTATORIO DEL SÍNDROME DE X FRAGIL

*Autor/a/s:* Matilde Romero Zarco, Yolanda Peláez Nora, Jose A. Barcia Barrera, Raquel Fernández García, Guillermo Antiñolo Gil, Salud Borrego López

*Centro de trabajo:* Unidad de Gestión Clínica de Genética, Reproducción y Medicina Fetal. Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla.

*Provincia:* Sevilla

*Correo electrónico del primer firmante:* matilde.romero.sspa@juntadeandalucia.es

#### **Introducción:**

El síndrome de X Frágil (FRAX, OMIM #300624) es la causa más común de retraso mental hereditario. Se trata de una enfermedad ligada al cromosoma X con una prevalencia aproximada de 1/4000 hombres y 1/8000 mujeres. El grado de afectación es variable, oscilando desde un retraso mental leve a grave, asociado a un fenotipo característico: cara alargada, orejas grandes despegadas, macroorquidismo, hiperactividad, lenguaje repetitivo, etc. La mutación que causa este síndrome es una expansión del triplete CGG localizado en la región 5'UTR del gen FMR1 (OMIM\*309550), que codifica a la proteína FMRP. En población general el nº de repeticiones es polimórfico, variando entre 6 y 50. El aumento de este nº de repeticiones hasta 200 se denomina premutación, siendo este nº de repeticiones más inestable y observándose en las siguientes generaciones un aumento del mismo hasta lo que se denomina full mutation o mutación completa, a partir de 200 repeticiones. En esta última situación se produce hipermetilación del 5'UTR y por lo tanto el gen FMR1 no se expresa, dando lugar al fenotipo de la enfermedad.

El diagnóstico genético preimplantacional (PGD) se define como el análisis genético de los embriones obtenidos por fecundación in vitro (FIV) y la posterior transferencia de los caracterizados como no afectados. Su objetivo es ofrecer una opción reproductiva a familias con alto riesgo de transmitir enfermedades de base genética a su descendencia, como es el caso de FRAX.

#### **Metodología:**

La UGC de Genética, Reproducción y Medicina Fetal del Hospital Universitario Virgen del Rocío ha implementado un método molecular aplicado al PGD de FRAX. Se basa en una PCR múltiple que permite amplificar simultáneamente diferentes combinaciones de hasta 6 marcadores microsatélite (FRAXAC1, FRAXAC2, DXS548, DXS1215, DXS1193 y DXS6687) próximos a dicha región, y un marcador de sexo (SRY). Las parejas incluidas en el programa PGD son sometidas a un ciclo FIV en el que tras estimulación ovárica controlada de la mujer y los correspondientes controles clínicos y ecográficos, se realiza una punción folicular bajo anestesia para la obtención de ovocitos. Los ovocitos maduros son sometidos a inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), y los embriones viables resultantes que presenten una adecuada progresión en su división (6 a 8 células en día+3), son sometidos a biopsia embrionaria para extracción de 1 o 2 células blastómeras. Finalmente se realiza el diagnóstico genético mediante la PCR múltiple sobre dichas células biopsiadas para establecer el estatus de los embriones como afectados o no afectados. Como paso previo se habrá realizado el estudio de informatividad en la pareja para la selección de los marcadores informativos, útiles para realizar el diagnóstico. Un máximo de 2 embriones sanos que permanezcan viables tras la biopsia son transferidos al útero de la mujer en día +5, y el resto de ellos son criopreservados para posibles futuras transferencias.

#### **Resultados:**

Nuestro método se ha aplicado satisfactoriamente en un total de 5 ciclos de PGD en 4 parejas con mujer portadora, y ha permitido el diagnóstico fiable del 100% de los embriones analizados. Como consecuencia se ha podido realizar un total de 2 transferencias, logrando embarazo bioquímico en 1 de ellas.

#### **Conclusiones:**

Nuestra Unidad ha optimizado un método de diagnóstico molecular indirecto de FRAX con especial utilidad en su aplicación al PGD, aunque también aplicable a diagnóstico prenatal y postnatal como complemento del estudio molecular directo de la expansión. Dicho método tiene notables ventajas como su sencillez, robustez, eficiencia, fiabilidad, y rapidez en la obtención de resultados (aproximadamente 4 horas tras la biopsia embrionaria).

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 142**

### **SISTEMA RCAS-TVA PARA LA INTRODUCCIÓN: DE ONCOGENES EN GLÁNDULA MAMARIA IN VIVO**

*Autor/a/s:* Marta Escorihuela Báez, Antonio Luque García.

*Centro de trabajo:* VHIO, Vall d'Hebron Instituto Oncológico

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* mescorihuela@he.vhio.net

#### **Introducción:**

La investigación es fundamental para lograr mejores resultados en la lucha contra el cáncer de mama. Concretamente el desarrollo de modelos animales que reproduzcan tumores humanos puede ayudar a avanzar en el tratamiento de este tipo de cáncer. La inyección intraductal es una de las últimas técnicas desarrolladas que mejor reproducen la evolución del cáncer de mama.

#### **Objetivos:**

El objetivo de nuestro trabajo es el estudio in vivo de la evolución del cáncer de mama en un modelo animal que sea lo más realista posible a lo que sucede con el cáncer de mama en humanos.

#### **Material y Métodos:**

Ratones MMTV/TVA y retrovirus RCAS.

#### **Procedimiento:**

A través de la inyección en el conducto ductal (intraductal) de la glándula mamaria de ratones transgénicos que expresan el receptor para el virus de la leucosis aviar (TVA), introducimos los onco-retrovirus RCAS que infectaran algunas células luminales que expresan el receptor viral. De esta manera logramos la expresión de oncogenes en un bajo número de células en el contexto de un epitelio normal. Por lo tanto, este modelo de cáncer de mama reproduce de una manera más real lo que sucede en humanos, a diferencia de los animales transgénicos o knockout en los que se obtiene un epitelio completamente mutado.

#### **Resultados:**

Según lo publicado, pasados unos días se pueden detectar lesiones intraductales a través de tinciones de HE y tumores multifocales.

En nuestro laboratorio estamos poniendo a punto esta técnica y esperamos tener resultados positivos en materia de senescencia por oncogenes y el estudio de metástasis por IHQ o IVIS.

#### **Conclusiones:**

Podemos decir que la técnica de inyección intraductal, es un avance significativo en el terreno del estudio del cáncer de mama, ya que se asemeja a la realidad en la formación de los tumores y permite conocer mejor la evolución de la enfermedad.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 146**

### **LEUCEMIA AGUDA LINFOBLÁSTICA DEL ADULTO PRE-B CON TRASLOCACIÓN (1;19)/TCF3-PBX1**

*Autor/a/s:* José A. Barcia Barrera, M<sup>a</sup> Angeles Corzo Lopez, Yolanda Pelaez Nora, Rosario M<sup>a</sup> Morales, Javier Sanchez Garcia, Salud Borrego, Guillermo Antiaño

*Centro de trabajo:* U.G.C de Genética, Reproducción Y Medicina Fetal. Hospital Universitario Virgen del Rocío (H.U.V.R.)

*Provincia:* Sevilla

*Correo electrónico del primer firmante:* josea.barcia.sspa@juntadeandalucia.es

#### **Introducción:**

La leucemia aguda linfoblástica B con t(1;19) tiene una frecuencia baja en adultos y predomina en sujetos jóvenes. Esta translocación conduce a la producción de un gen TCF3(E2A)/PBX1 y una proteína de fusión que tiene un papel oncogénico. Puede presentarse en equilibrio (recíproca) o, más frecuentemente, en desequilibrio con la formación de un der(19) y dos cromosomas 1 normales. Tiene un inmunofenotipo predictivo muy característico y su significado pronóstico es controvertido.

#### **Objetivos:**

Describir frecuencia, alteraciones citogenéticas y pronóstico en casos adultos LAL con t(1;19).

#### **Métodos:**

Estudio retrospectivo de casos incidentes de LAL en adultos en HUVR durante los últimos 3 años. Identificamos pacientes con t(1;19)(citometría de flujo, citogenética, FISH) y revisamos alteraciones citogenéticas y pronóstico (tratamiento, complicaciones y supervivencia).

#### **Resultados:**

25 pacientes adultos fueron diagnosticados de LAL en el período de estudio. 2 casos presentaron la t(9;21) (8%):

CASO 1: Mujer de 36 años diagnosticada en Septiembre de 2009 de LAL pre-B. Al diagnóstico: Leucocitos 66.30 x 10e9/L, Hb 125 g/L, Plaquetas 39 x 10e9/L; coagulación con coagulopatía de consumo; citología de LCR normal; citometría de flujo: linfoblastos pre-B, CD34-, CD9+, IgG+; cariotipo: 46XX,?inv(6)(p15q13); del13(q13)der(9)t(1;19)(q23;p13)[21]/46XX[5]; FISH y biología molecular confirman reordenamiento TCF3/PBX1, con patrón en desequilibrio en el primero.

Comienza tratamiento según protocolo PTEHEMA-AR-2003 alcanzando remisión completa tras la inducción. Como complicaciones presenta leucoencefalopatía posterior reversible de origen tóxico e infección fúngica rinocerebral por Mucor que requiere tratamiento quirúrgico, quedando como secuela hemiplejía derecha progresiva y afasia motora. Se adopta una actitud conservadora/paliativa con múltiples complicaciones infecciosas. Recae a los 15 meses del diagnóstico con una supervivencia de 18 meses siendo éxitus por cuadro séptico de focalidad abdominal.

CASO 2: Mujer de 28 años diagnosticada en febrero de 2011 de LAL pre-B. Al diagnóstico: leucocitos 15.6 x10<sup>9</sup>/L, Hb 40 g/l, Plaquetas 61 x10<sup>9</sup>/L; coagulación normal; citología de LCR normal; citometría de flujo: linfoblastos B CD34-, CD9++Igc+; cariotipo: 46XX,der(12)t(1;12)(q23;q24.1), der(19)t(1;19)(q23;p15), inc [15]/46XX[1]; FISH en interfase y metafase confirma reordenamiento TCF3/PBX1 con un patrón en desequilibrio y atípico que sugiere la presencia de al menos tres clones con implicación de 1q23; biología molecular positiva para dicho reordenamiento. Comienza tratamiento de inducción según protocolo PETHEMA LAL Riesgo intermedio 2008 alcanzando remisión completa tras inducción. Presenta como complicaciones una toxicidad neurológica (somnia y alucinaciones) tóxica y alargamiento de los tiempos de coagulación. Actualmente libre de enfermedad con seguimiento de dos meses.

#### Comentarios:

La frecuencia de LAL-B con t(1;19)/TCF3-PBX1 alcanzó 8% de LAL en adultos.

Los hallazgos inmunofenotípicos (CD34-, CD9++, Igc) permitieron predecir la t(1;19). En el segundo caso se detectó una translocación "jumping" (cromosoma donante 1, cromosomas receptores 12 y 19). Ambas pacientes muestran la alteración en desequilibrio y presentan varias alteraciones citogenéticas adicionales. Alcanzaron remisión completa, aunque el curso posterior se caracterizó por complicaciones neurológicas e infecciosas, recaída y fallecimiento de la primera paciente a los 18 meses.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 151

### DETERMINACIÓN DE VARIACIONES GENÉTICAS DEL GENE IL28B: CONTRIBUCIÓN DE LA FARMACOGENÓMICA EN EL TRATAMIENTO CON INTERFERÓN DE LA HEPATITIS POR EL VIRUS C

Autor/a/s: Carrero Baz, Pilar; Crego Martín, Amador; Matas LLorente, Piedad; García Berrocal, Belen; Isidoro García, María.

Centro de trabajo: Centro Asistencial Universitario de Salamanca

Provincia: Salamanca

Correo electrónico del primer firmante: pcarrerob@yahoo.es

#### Introducción:

El gen IL28B codifica la interleucina 28, también conocido como Interferon Lambda tipo III (IFN-λ3) o citocina relacionada con el interferón alfa, se constituye como un mensajero químico de las reacciones inmunológicas que presenta también actividad antiviral. Alrededor de este gen se han identificado algunos polimorfismos relacionados con la respuesta antiviral en pacientes afectados por el virus de la hepatitis C (VHC). Se están estudiando diferentes SNP de esta región del cromosoma 19 donde se ubica el IL28B con resultados prometedores en relación con la respuesta terapéutica frente a la infección por VHC. El SNP conocido como rs12979860, ubicado 3 Kb antes del gen IL28B, mostró una asociación con el aclaramiento viral espontáneo y la respuesta al tratamiento. Los individuos portadores de dos copias del alelo C (genotipo CC) para el SNP rs12979860 son los más propensos a responder al tratamiento. Por el contrario, los individuos portadores de los genotipos CT o TT son menos propensos a la respuesta terapéutica.

#### Objetivo:

Considerando que el genotipo específico que presenta cada paciente se correlaciona con el aclaramiento espontáneo de Virus de la Hepatitis C y con la respuesta al tratamiento con Interferón, nos planteamos la incorporación de la determinación del polimorfismo rs12979860 IL28B a la cartera de servicios de la sección de Genética Molecular y Farmacogenética del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca, así como el análisis de las frecuencias genotípicas y alélicas en nuestra población.

#### Material y Métodos:

Para la puesta a punto y validación se emplearon 65 muestras de sangre total (40 varones y 25 mujeres), la extracción automatizada de ADN se realizó con el sistema MagnaPure® Compact. (ROCHE) con 1 ml de sangre total, eluyendo en 200ul. Todas las muestras se analizaron mediante PCR en tiempo real con sondas FRET, en un LightCycler® (LC) 480 seleccionando los primers y sondas adecuados para las discriminaciones alélicas.

Los patrones obtenidos de los genotipos homocigotos CC y TT fueron confirmados mediante secuenciación en un secuenciador automático Gene Amp PCR System 9700 de Applied Biosystems tras amplificación mediante PCR convencional y posterior purificación en columna.

#### Resultados:

En la puesta a punto metodológica se identificaron los correspondientes patrones con una Tm para el alelo C de 62°C y una Tm para el alelo T de 55°C.

En el análisis de las frecuencias alélicas se observó una frecuencia para el alelo C de 0.58 y para el alelo T de 0.42. El estudio de las frecuencias genotípicas permitió detectar un 32.3% de homocigotos CC, un 52,3% de heterocigotos CT, y un 15.4% de homocigotos TT.

#### Conclusiones:

El genotipo del polimorfismo del gen IL28B en pacientes afectados por VHC se puede considerar un factor predictivo basal muy potente de respuesta al tratamiento antiviral. Ello resulta de gran importancia para la toma de decisiones terapéuticas. Dada la elevada incidencia de portadores del alelo T en nuestra población, el impacto socioeconómico de la implantación de esta determinación es muy elevado tanto el derivado de la adecuada indicación terapéutica como de la importante disminución de efectos adversos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 155

### INTRODUCCIÓN: DE NUEVA METODOLOGÍA EN EL LABORATORIO MOLECULAR Y SU EVOLUCIÓN HACIA LA FARMACOGENÉTICA

Autor/a/s: Crego Martín, Amador; Carrero Baz, Pilar; García Berrocal, Belen; Isidoro García, María.

Centro de trabajo: Complejo Asistencial Universitario de Salamanca

Provincia: Salamanca

Correo electrónico del primer firmante: amacre@usal.es

#### Introducción:

El enorme desarrollo de las técnicas de Biología Molecular está condicionando la evolución de los Laboratorios de Técnicas Moleculares. La utilización de técnicas como la PCR en tiempo real (PCR-RT) simplifica enormemente los estudios genéticos. La clave es la posibilidad de detectar en tiempo real la amplificación de la región de DNA de interés. Del mismo modo, el empleo de Técnicas de alto rendimiento como los Microarrays de genotipado proporciona el análisis simultáneo de múltiples secuencias. Estos avances favorecen la introducción de nuevas determinaciones en el laboratorio como las relacionadas con la Farmacogenética que facilitan un mejor manejo del tratamiento e importante ahorro en el coste del mismo, individualizando la terapia de los pacientes.

#### Objetivo:

Analizar la evolución del Laboratorio de Genética Molecular y Farmacogenética del Servicio de Bioquímica del Complejo Universitario de Salamanca para afianzar el desarrollo de este tipo de laboratorios hacia técnicas de Farmacogenética como centro de referencia.

#### Material y Métodos:

En este trabajo se analizaron 2464 muestras de pacientes estudiados en el Laboratorio de Genética Molecular y Farmacogenética procedentes tanto de Atención Especializada como de Atención Primaria del Área de Salamanca así como de otras Áreas de la región. El DNA fue extraído mediante el sistema automatizado MagnaPure® Compact. (ROCHE). El análisis del genotipado se realizó mediante los Equipos LightCycler® 2.0 para determinación en capilares y LightCycler® 480 II para determinaciones en placa, así como la Plataforma de Genotipado de alto rendimiento Amplichip (Roche) basada en la tecnología de microarrays de Affymetrix.

#### Resultados:

La evolución de las peticiones se analizó de forma anual. Los resultados se reflejan en la siguiente tabla:

AÑO	Nº PET	PRUEBAS
2007	333	APOE, HFE, CYP2D6 Y CY2C19
2008	510	APOE, HFE, CYP2D6 Y CY2C19
2009	475	APOE, HFE, CYP2D6 Y CY2C19, AAT, LCT
2010	534	APOE, HFE, CYP2D6 Y CY2C19, AAT, LCT, UGT1A1
2011	593	APOE, HFE, CYP2D6 Y CY2C19, AAT, LCT, UGT1A1, IL28B, CYP2B6, CYP2C9, CON26

Se observa un aumento en el volumen de peticiones (Nº PET.) desde el inicio del 43.84%. El incremento en el número de pruebas de Farmacogenética ha pasado de 58 en el año 2007 a 361 pruebas en año 2011. Lo que ha supuesto un incremento del 83.93%.

En el año 2007 se realizaban 2 pruebas de genotipado y 2 de Farmacogenética, mientras que durante el último año se realizan 5 pruebas de genotipado, 4 de Farmacogenética y una mixta (UGT1A1).

#### Conclusiones:

La rápida evolución de las técnicas de análisis de Genotipado, así como la identificación de nuevos marcadores de respuesta terapéutica está determinando la evolución de los laboratorios Moleculares. En nuestro caso, la incorporación de esta metodología está favoreciendo el amplio desarrollo de la Farmacogenética en nuestro medio lo que permite abordar una Medicina Individualizada adaptando el tratamiento al sustrato genético del paciente con una importante implicación socioeconómica, así como la centralización de la referencia en nuestro medio.

### DIAGNOSTICO PRENATAL DE CINCO CASOS CON TRIPLOIDIA.CORRELACION GENOTIPO-FENOTIPO.

*Autor/a/s:* José A. Barcia Barrera, M<sup>a</sup> Angeles Corzo Lopez, Matilde Romero Zarco, Javier Sanchez, Salud Borrego, Guillermo Antiñolo.

*Centro de trabajo:* U.G.C de Genética, Reproducción Y Medicina Fetal. Hospital de la Mujer (H.U.V.R)

*Provincia:* Sevilla

*Correo electrónico del primer firmante:* josea.barcia.sspa@juntadeandalucia.es

#### Introducción::

La triploidia se caracteriza por la presencia de un complemento cromosómico extra haploide (n=23 cromosomas), al complemento normal diploide. La triploidia puede aparecer, fundamentalmente, por dos mecanismos: como consecuencia de la fertilización de un ovulo por dos espermatozoides (dispermia), por la fertilización de un espermatozoide diploide, o por la fertilización de un ovulo diploide (digenia), como resultado de un error meiótico paterno o materno respectivamente.

La triploidia representa el 16% de las anomalías citogenéticas detectadas en abortos espontáneos precoces.

Mientras que la triploidia debido a un complemento haploide extra paterno se asocia a un desarrollo anómalo de la placenta, dando lugar a una mola; la triploidia de origen materno se asocia a abortos espontáneos precoces.

#### Resultados:

Presentamos cinco casos de triploidia diagnosticadas prenatalmente. Todos los casos fueron diagnosticados mediante cultivo de células de líquido amniótico. En uno de ellos realizamos comprobación en linfocitos fetales. En uno de los casos realizamos hibridación in situ fluorescente con sondas específicas para los cromosomas 13, 18, 21, X e Y en células de líquido amniótico no cultivadas.

En cuatro de los casos el complemento cromosómico fue de 69,XXX, mientras que en tan solo un caso el complemento fue 69,XXY.

#### Comentarios:

Realizamos una correlación entre el complemento cromosómico y los hallazgos ecográficos.

Aunque prácticamente la totalidad de los embarazos con triploidia abortan espontáneamente, en algunos casos no ocurre hasta etapas avanzadas de la gestación. Hay una serie de hallazgos ecográficos asociados a esta dotación cromosómica, entre ellas retraso crecimiento intrauterino, degeneración placentaria, defectos craneales, defectos cardiacos, renales y genitourinarios.

### ESTUDIO MUTACIONAL EN DOS PACIENTES CON ENFERMEDAD GRANULOMATOSA CRÓNICA AUTOSÓMICA RECESIVA POR DEFECTO EN EL GEN CYBA (P22)

*Autor/a/s:* Fernández-Carrión Pérez María del Carmen, Bernal de la Rosa Carmen, Pascual Campo María del Carmen, Varga Cubillo Begoña, López Lera Alberto, Ferreira Cerdán Antonio

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario La Paz

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* macafepe58@hotmail.com

#### Introducción:

La Enfermedad Granulomatosa Crónica ( EGC ) es una inmunodeficiencia primaria debida a mutaciones de los genes que codifican para la NADPH oxidasa de los fagocitos. Clínicamente se caracteriza por infecciones recurrentes bacterianas y fúngicas de repetición, que suelen comenzar en el primer año de vida. La EGC puede ser debida a cinco defectos genéticos: mutaciones en CYBB (gp91phox) es la forma mas frecuente (60-70%), NCF1 (p47) entre el 20-30% y, mutaciones en CYBA (p22), NCF2 (p67) y NCF3 (p40) aproximadamente el 5%.

Describimos el diagnóstico molecular de dos pacientes varones, diagnosticados de EGC a los 12 meses y 2 años. El primero debuta a los 10 meses con cuadro febril de un mes de evolución y múltiples adenopatías abdominales y torácicas, el segundo presenta a los 20 días proceso neumónico con fiebre y adenopatías submandibulares. Entre las diversas pruebas que se les realizan, la actividad de generación anión superóxido resulta negativa por lo que se les diagnostica de EGC. Los padres presentan una generación de anión superóxido normal. Se intenta conocer el defecto molecular de los 2 pacientes.

#### Materiales y Métodos:

Se determinó la actividad respiratoria de los neutrófilos mediante citometría de flujo (oxidación de dihidrorrodamina), espectrofotometría mediante reducción de ferricitocromo c. Posteriormente se cuantificó la presencia de gp91phox en membrana de fagocitos mediante citometría de flujo (anticuerpo monoclonal 7D5). Se caracterizaron las mutaciones analizando el gen CYBB (amplificación y secuenciación de los 13 exones y sus regiones intrónicas adyacentes) y CYBA (amplificación y secuenciación de los 6 exones y sus regiones intrónicas adyacentes), finalmente la consecuencia a nivel de ARN mediante RT-PCR y secuenciación en el paciente 1.

#### Resultados:

Los neutrófilos de los pacientes carecían de generación de anión superóxido por citometría y espectrofotometría lo que permitió el diagnóstico de EGC, estas pruebas en sus madres fueron normales. Ambos carecían de gp91phox en granulocitos, sus madres presentaban cantidades normales. La secuenciación del gen CYBB (acceso D0025 base ESID) fue normal en pacientes y madres. Se realiza estudio del gen CYBA (acceso D0024 base ESID), mostrando el paciente 1 una mutación de origen paterno en el exón 4 (g.5287T>C;c.287T>C;p.L96P) y una de origen materno en exón 5 (g.5911C>A;c.382C>A;p.S118R). El paciente 2 presentaba en homocigosis la mutación de origen paterno y materno (g.5911C>A;c.382C>A;p.S118R)

#### Conclusiones:

Se diagnostica a 2 pacientes de EGC por defecto del gen CYBA(p22).

El paciente 1 presenta una mutación no descrita c.287T>C en exón 4 que produce un cambio de aminoácido, otra mutación descrita en el mismo codon produce pérdida de exon 5.

Las 3 mutaciones restantes en nuestros pacientes son el cambio c.382C>A, esta mutación está descrita en americanos de origen hispano por lo que posiblemente el defecto fundador procediera de España.

Estos resultados, junto con otros no presentes en este trabajo parecen indicar que las formas autosómicas recesivas por defectos de CYBA (p22) y NCF2 (p67) son mas frecuentes que las reseñadas anteriormente.

### DIAGNÓSTICO GENÉTICO DEL SÍNDROME DE LYNCH EN LA COMUNIDAD VALENCIANA

*Autor/a/s:* Castillejo, María Isabel; Castillejo, Adela; Barberá, Víctor Manuel; Payá, Artemio; Alenda, Cristina; Andrada, Encarna; Sanchez-Heras, Ana Beatriz; Segura, Ángel; Chirivella, Isabel; Tena, Isabel; Juan-Fita, María José; Navarro-Fos, Samuel; Pellin, Antonio; Ramos, David; Pellin, Ana; Lopez-Guerrero, José Antonio; Garcia-Casado, Zaida; Goicoechea, Mercedes; Salas, Dolores; Soto, José Luis.

*Centro de trabajo:* Laboratorio Genética Molecular. Hospital Universitario Elche

*Provincia:* Alicante

*Correo electrónico del primer firmante:* micastillejo@gmail.com

#### Introducción:

El síndrome de Lynch se define como una predisposición hereditaria a cáncer colorrectal y otros tumores como resultado de una mutación en línea germinal en cualquiera de los genes que codifican para las proteínas reparadoras de los errores que se producen durante la replicación del ADN (genes MMR: MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2). El tipo de herencia es autosómico y dominante. La identificación de una mutación causante del síndrome, en una familia con sospecha de síndrome de Lynch, posibilita el estudio genético de los familiares a riesgo identificando aquellos individuos con un alto riesgo que son susceptibles de ser sometidos a un programa especial de prevención, con objeto de minimizar la mortalidad por cáncer en los individuos de alto riesgo. En el año 2005 se puso en marcha el Programa de Cáncer Hereditario en la Comunidad Valenciana. El centro de referencia para el estudio genético de síndrome de Lynch es el Laboratorio de Genética Molecular del Hospital de Elche.

#### Objetivo:

El objetivo del presente trabajo es el análisis de la actividad (2005-2011) en el diagnóstico genético del síndrome de Lynch llevada a cabo en el laboratorio central de referencia para la Comunidad Valenciana.

#### Material y Métodos:

Los pacientes son remitidos a las Unidades de Consejo Genético en Cáncer cuando se cumplen criterios clínicos de sospecha que significan las guías de Bethesda. Dichos pacientes se someten a una fase de pre-estudio genético que comprende hasta cuatro determinaciones diferentes dependiendo de cada situación (inestabilidad de microsátélites, análisis inmunohistoquímico de las proteínas reparadoras, mutación de BRAF e hipermetilación de MLH1). El estudio inmunohistoquímico permite orientar el ulterior análisis genético hacia aquellos genes que muestran una ausencia de expresión en el núcleo

de las células tumorales. El diagnóstico de inestabilidad de microsatélites en el tumor es indicativo de la pérdida de funcionalidad de los genes MMR. La mutación V600E en BRAF y/o hipermetilación del promotor de MLH1 permiten excluir los tumores esporádicos del estudio genético posterior. El resultado de estos análisis de la fase pre-estudio genético determina la pertinencia de continuar con el estudio genético de mutaciones en los genes MMR. Dichos estudios genéticos se llevan a cabo con ADN de células de sangre periférica, y comprenden el análisis de mutaciones puntuales de la secuencia codificante completa y las uniones intrón-exón de cada uno de los genes a analizar; así como el estudio de grandes deleciones e inserciones, que pueden ser causantes del síndrome.

### Resultados:

Un total de 1124 casos índice con sospecha de síndrome de Lynch fueron cribados en el pre-estudio genético desde abril 2005 hasta Diciembre 2012. De ellos, 235 presentaban pérdidas de expresión y/o inestabilidad de microsatélites y fueron sometidos a estudio genético de los genes MMR. Se detectaron un total de 90 mutaciones distribuidas de la siguiente forma: MLH1: 34 (25 puntuales, 5 grandes deleciones, 4 metilación constitutiva); MSH2: 30 (21 puntuales, 8 grandes deleciones, 1 EPCAM); MSH6: 24 (puntuales) y PMS2: 3 (2 puntuales, 1 gran deleción). Globalmente, el porcentaje de detección de mutaciones es de 38.3%; si bien la probabilidad de detectar mutaciones es dependiente de la historia familiar de cáncer, variando desde un 23.7% en casos con criterios de Bethesda a un 57.1% en casos con criterios más estrictos de Amsterdam II.

Un total de 553 familiares a riesgo de los casos con mutación detectada fueron también estudiados (media: 6.1/familia), pudiendo establecer de forma precisa su nivel de riesgo y entrando en un programa específico de cribado de alto riesgo.

### CONCLUSIÓN:

El diagnóstico temprano del síndrome de Lynch permite la selección de individuos con alto riesgo de cáncer en familias con sospecha del síndrome. La adhesión de los individuos con mutación a un programa específico de seguimiento, permite prevenir la morbi-mortalidad por cáncer en dichos individuos.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 192**

## **PURIFICACIÓN DE CÉLULA TUMOR Y NORMAL EN PACIENTES CON LINFOMA DE CÉLULAS DEL MANTO**

*Autor/a/s:* Miriam Prieto, Alba Navarro, Silvia Bea, Elias Campo.

*Centro de trabajo:* IDIBAPS Hospital Clinic de Barcelona

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* mprieto1@clinic.ub.es

### Introducción:

El Linfoma de Células del Manto es un tumor muy heterogéneo con una evolución clínica muy agresiva en la mayoría de pacientes, mientras que en un subgrupo el curso clínico puede ser muy indolente. Las razones de esta heterogeneidad no son muy conocidas, pero podrían ser debidas, en parte, a la creciente acumulación de alteraciones genómicas. Estudios genéticos han identificado solamente un número muy limitado de genes mutados. Las nuevas tecnologías de Ultrasecuenciación de DNA ofrecen una posibilidad sin precedentes de poder identificar las mutaciones somáticas de los tumores. Nuestro Objetivo es utilizar estas tecnologías para secuenciar genomas completos y exomas de pacientes. Para ello necesitamos DNA tumoral bastante puro (aprox. 80%) y DNA normal muy puro (aprox. 95%). Generalmente partimos de muestra tumoral (ganglio o sangre periférica afectada) y muestra normal (sangre periférica no afectada, por ejemplo en fase de remisión del enfermo, o pacientes sin leucemización). No obstante, a veces solo disponemos de viales de células criopreservadas de sangre, con porcentajes variables de célula tumoral y normal. El Objetivo de este trabajo es determinar si es posible obtener suficiente DNA tumoral y normal de la misma muestra criopreservada, con la suficiente pureza y con suficiente cantidad para enviar a ultrasecuenciar.

### Material y Métodos:

La purificación de las poblaciones de células tumorales y normales de 4 pacientes con Linfoma de Células del Manto se realizó a partir de sangre periférica (200 millones de células con 80-90% de Célula B). Inicialmente realizamos una separación de células mononucleadas mediante gradiente con Ficoll, seguidamente un marcaje con bolas magnéticas conjugadas con el Anticuerpo Monoclonal Anti-Human CD19 (MILTENY BIOTECH) para separar las dos poblaciones CD19 positivas (células B tumorales) y CD19 negativas (células B normales) mediante el separador AUTOMACS Pro-Separator. A continuación, se determinó la pureza de las dos poblaciones celulares marcadas mediante un Citómetro FACS Canto. En caso necesario, cuando las puridades requeridas no son obtenidas en la primera ronda de purificación, realizamos posteriores purificaciones. Por último, realizamos extracción de DNA mediante el kit de Qiagen.

### Resultados:

En el presente estudio hemos separado población tumoral y normal en 4 pacientes. El porcentaje de célula tumoral en la muestra de inicio era: 69, 80, 82 y 83%. Después de las purificaciones, en los 4 casos, la población tumoral tenía una pureza de 97-99%, mientras que la población normal muy pura (95%) solo se pudo obtener en un caso, en los 3 restantes solo llegamos a un 80% de pureza de DNA normal (insuficiente para secuenciar).

### Conclusiones:

En conclusión, para realizar estudios de secuenciación del genoma completo con DNA tumor y normal en muestras de pacientes con Linfoma de Células del Manto partiendo de un solo tubo de material criopreservado, lo idóneo sería partir de muestras con al menos 50 millones de células y una pureza inicial del 50-60% de célula B tumoral, en lugar de partir de material con un 80% de célula tumoral. De esta forma, se consigue una pureza del 95% en las dos poblaciones y cantidad suficiente para la obtención del DNA.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 208**

## **VALIDACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO A PARTIR DE DIFERENTES TIPOS DE MUESTRAS BIOLÓGICAS MEDIANTE UN SISTEMA AUTOMATIZADO BASADO EN ESFERAS MAGNÉTICAS**

*Autor/a/s:* Barberán Aceituno, Cristina; Aguilar Quesada, Rocío; Lucena Aguilar, Gema; Gómez Ramírez, Raquel; Miranda Serrano, Blanca

*Centro de trabajo:* Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía

*Provincia:* Jaén

*Correo electrónico del primer firmante:* cristina.barberan.exts@juntadeandalucia.es

### Resumen:

El Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía ofrece al Usuario las mayores y mejores opciones de productos sanguíneos o derivados, tejidos y sustancias o muestras biológicas de origen humano, tanto para uso asistencial como de investigación. El Área para la Investigación Biomédica del Biobanco obtiene, procesa, custodia y distribuye muestras biológicas de calidad para su utilización en investigación, validando y optimizando los procedimientos en uso para lograr dichos objetivos. En el Nodo de Coordinación del Biobanco hemos apostado por el robot de extracción de ácidos nucleicos Chemagic MSM I (Chemagic Magnetic Separation Module I) de la casa Chemagen, basado en una tecnología de esferas magnéticas, y lo hemos puesto en marcha para la extracción de ADN genómico a partir de muestras de sangre de gran volumen, muestras de saliva recogidas en el sistema de Oragene, muestras de tejido congelado de pequeño tamaño y pellets celulares.

### Objetivos:

Nos proponemos realizar un estudio comparativo entre el método automatizado de extracción de ADN basado en esferas magnéticas y el método de extracción de ADN manual basado en columnas, anteriormente utilizado en el Nodo de Coordinación, mediante el análisis de la pureza e integridad del ADN genómico obtenido con estos métodos a partir de diferentes tipos de muestras biológicas. El objetivo es confirmar si los resultados de pureza y tamaño del ADN genómico obtenido de forma automatizada con el robot Chemagic MSM I, igualan o incluso superan los del ADN genómico resultante de los métodos manuales, cumpliendo así los requisitos necesarios para las futuras aplicaciones de este tipo de muestra por los investigadores.

### Material y Métodos:

El rendimiento del proceso de extracción, así como la pureza e integridad del ADN genómico derivado de muestras de 10 ml de sangre anticoagulada con EDTA, muestras de 2 ml de saliva recogidas en el sistema de Oragene, muestras de 10 secciones de 20 µm de tejido congelado en OCT y pellets celulares de entre 1 y 6 millones de células, ha sido evaluada mediante espectrofotometría, electroforesis en gel de agarosa y fluorimetría emitida por picogreen®.

### Resultados y Conclusiones:

El rendimiento del proceso de extracción automatizado de ADN genómico a partir de sangre y tejido congelado es mucho más elevado que el correspondiente a la extracción manual, siendo esta diferencia muy acusada en el caso de la extracción a partir de tejido congelado. Aunque la extracción automatizada de ADN genómico a partir de saliva presenta un rendimiento mas bajo que la extracción manual, la integridad determinada por picogreen indica que la cantidad de ADN integro obtenida se reduce a la mitad en el proceso manual. La pureza determinada mediante espectrofotometría y el tamaño de las muestras de ADN genómico analizado por electroforesis en gel de agarosa confirman que la calidad del ADN genómico obtenido en el robot es óptima e iguala la del ADN obtenido de forma manual. Como conclusión, el ADN genómico obtenido mediante el robot basado en esferas magnéticas Chemagic MSM I a partir de diferentes tipos de muestras biológicas en el Nodo de Coordinación del Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía, cumple los requisitos de calidad necesarios para la utilización del mismo por los investigadores en múltiples aplicaciones.

## XENOGRAFTS VS SISTEMA RCAS-TVA PARA LA INTRODUCCIÓN: DE ONCOGENES IN VIVO

*Autor/a/s:* Antonio Luque García y Marta Escorihuela Báez.

*Centro de trabajo:* VHIO, Vall d'Hebron Instituto Oncológico

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* aluque@he.vhio.net

### Introducción:

La investigación es fundamental para lograr mejores resultados en la lucha contra el cáncer de mama. Concretamente el desarrollo de modelos animales que reproduzcan tumores humanos puede ayudar a avanzar en el tratamiento de este tipo de enfermedad. Esta charla pretende hacer una comparativa entre dos técnicas utilizadas en nuestro laboratorio: Xenografts y Sistema RCAS-TVA para la introducción de oncogenes in vivo.

### Objetivos:

El objetivo de nuestro trabajo es el estudio in vivo de la evolución del cáncer de mama en modelos animales que reproduzca fielmente esta enfermedad en humanos.

### Material y Métodos:

Ratones Balb/C Nude, ratones NOD/Scid, ratones MMTV/TVA, células humanas, líneas celulares comerciales y retrovirus RCAS.

### Procedimiento:

Xenografts: Del griego xenos (extranjero), es el trasplante de células vivas, tejidos u órganos de una especie a otra.

La técnica utilizada es la inyección de células vivas, tanto comerciales como aisladas de muestras de pacientes, en el flanco del ratón o directamente en la mama (ortotópico). De esta manera conseguimos un tumor con unas características determinadas o exactamente igual al original del paciente.

Por otro lado, a través de la inyección en el conducto ductal (intraductal) de la glándula mamaria de ratones transgénicos que expresan el receptor para el virus de la leucosis aviar (TVA), introducimos los onco-retrovirus RCAS que infectaran algunas células luminales que expresan el receptor viral. De esta manera logramos la expresión de oncogenes en un bajo número de células en el contexto de un epitelio normal.

A partir de estas dos técnicas podemos realizar estudios a nivel celular (IHQ), molecular (proteínas, DNA y RNA), así como de comportamiento y respuesta (metástasis, senescencia y respuesta inmune).

### Resultados:

A través de los xenografts en nuestro laboratorio hemos obtenido buenos resultados en materia de senescencia y el estudio de metástasis por IHQ o IVIS.

En este momento estamos poniendo a punto la técnica de inyección intraductal y esperamos tener resultados positivos en el campo de la senescencia por oncogenes y el estudio de metástasis. Por otro lado, siendo que este modelo lo permite sería interesante estudiar la respuesta inmune a los tumores.

### Conclusiones:

Podemos decir que los xenografts es una técnica sencilla, que permite reproducir tumores humanos en ratón (posibles tratamientos), y que da buenos resultados a nivel de senescencia y metástasis, pero no da información sobre respuesta inmune.

En cambio la introducción de oncogenes a través de la inyección intraductal, es un avance significativo ya que se asemeja a la realidad en la formación de los tumores y permite conocer mejor la evolución de la enfermedad, en un contexto inmunocompetente. Por lo tanto, este modelo de cáncer de mama reproduce de una manera más fiel lo que sucede en humanos, a diferencia de los animales transgénicos o knockout en los que se obtiene un epitelio completamente mutado. Sin embargo los tumores generados son de ratón y puede que no se correlacionen directamente en comportamiento con los tumores humanos.

## COMPARACIÓN ENTRE LA ESPECTROFOTOMETRIA Y FLUORIMETRIA COMO MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN DE MUESTRAS DE RNA

*Autor/a/s:* Sánchez Reina, Montse; Pla Rodríguez, Laura; Pinyol Martínez, Magda; Jares Gerboles, Pedro; Guerri Campo, Elias

*Centro de trabajo:* Centro Esther Koplowitz (CEK)-IDIBAPS

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* mseina@clinic.ub.es

### Introducción:

En una unidad de genómica, el RNA es utilizado como molécula de partida para el desarrollo de distintas tecnologías de high-through put como los microarrays o real time PCR. El primer paso en el flujo de trabajo de estas tecnologías consiste en la cuantificación y análisis de la calidad de las muestras de RNA.

El método más tradicional para la lectura de la concentración del RNA es mediante la espectrofotometría. Este método se basa en el análisis de la absorbancia mediada a 260nm y 280nm mediante un espectrofotómetro (p.ej: Nanodrop ND1000). Esta tecnología presenta una serie de desventajas ya que la cuantificación se puede ver afectada por contaminantes en la muestra como por ejemplo proteínas o nucleótidos libres que interfieren en la señal. Últimamente el uso de ciertos fluorocromos como por ejemplo el RiboGreen, se ha descrito como un método donde la cuantificación no se ve afectada por estos factores. El RiboGreen es un reactivo que detecta y cuantifica pequeñas cantidades de RNA.

### Material y Métodos:

En este estudio hemos analizado 40 muestras de RNA total que han sido extraídas en nuestro servicio.

Éstas muestras han sido cuantificadas por dos métodos distintos: 1) Cuantificación por absorbancia con el espectrofotómetro NanoDrop ND-1000. Esta metodología también nos dará información sobre la pureza del RNA mediante los ratios 260/280. 2) Cuantificación por fluorometría mediante el Quant-it RiboGreen kit que utiliza el fluorocromo RiboGreen para su análisis mediante el fluorímetro SynergyII de Biotek.

### Resultados:

Se han comparado los resultados de cuantificación de 40 muestras de RNA con las dos técnicas: lectura al nanodrop ND1000 y lectura al Synergy2 con RiboGreen. Las lecturas obtenidas mediante las dos aproximaciones presentaron una alta correlación ( $r=0.92$ ). Sin embargo, para un número significativo de muestras la concentración determinada mediante espectrofotometría resultó más elevada que la obtenida mediante fluorometría (30 de 40). El rango de lectura en el nanodrop en nuestras muestras no diluidas ha sido de 77.57 ng/ul a 1078.53 ng/ul, mientras que el RiboGreen las muestras han sido diluidas 10.000 veces y el rango observado fue de 10 ng/ml a 133 ng/ml

El 95% de las muestras leídas (38 de 40) con el Nanodrop ND1000, mostraron un ratio 260/280 superior a 1.8, indicando que se trataban de muestras de RNA de gran pureza.

### Conclusiones:

Según estos datos podemos concluir que ambas técnicas de cuantificación son óptimas para las lecturas de la concentración del RNA. El rango de concentración es distinto para cada una de ellas, mientras que con el RiboGreen debemos trabajar con diluciones que permitan detectar de 0 a 1000 ng/mL, la detección del Nanodrop ND-1000 es de 5-2000 ng/ul. Para algunos estudios de biología molecular es necesario trabajar con pequeñas cantidades de RNA para lo que el uso del RiboGreen será el método a utilizar.

La lectura con el RiboGreen, es una técnica que requiere de un procedimiento previo de las muestras. El fluorocromo es sensible a la luz y tiene un periodo de caducidad lo que limita su uso. Esto lo convierte en una técnica más laboriosa y costosa.

El espectrofotómetro Nanodrop ND-1000 es un método que requiere una menor manipulación del RNA por parte del técnico. Las muestras no requieren de una preparación previa y el tiempo empleado es mucho menor que en el caso del RiboGreen. Económicamente esta es una técnica mucho menos costosa.

Además, la lectura con el nanodrop puede dar información sobre la pureza de la muestra, dato que para algunas técnicas es necesario.

## COMPARACIÓN DE LA CALIDAD DE LAS MUESTRAS DE RNA EXTRAÍDAS MEDIANTE DOS METODOLOGÍAS DIFERENTES

*Autor/a/s:* Pla Rodríguez, Laura; Sánchez Reina, Montse; Pinyol Martínez, Magda; Jares Gerboles, Pedro; Campo Guerri, Elias

*Centro de trabajo:* Centro Esther Koplowitz (CEK)-IDIBAPS

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* lplar@clinic.ub.es

### Introducción:

El RNA es una molécula biológica que es utilizada en tecnologías relacionadas con la expresión génica (microarrays o Real Time PCR). Por ello, en una Unidad de Genómica, la monitorización de todo el proceso de manipulación del RNA es primordial ya que es una molécula muy lábil y se degrada con mucha facilidad. Hay varios métodos para extraer RNA de buena calidad, entre ellos la extracción con Trizol, extracción con columnas, etc... La elección del método de extracción es importante para el tipo de estudio que queremos realizar a posteriori. Distintos parámetros nos ayudan a determinar la calidad de este RNA como por ejemplo, la pureza, es decir, la presencia o no de contaminantes como proteínas, disolventes orgánicos, etc., que puede ser analizada por un espectrofotómetro con las

lecturas de los ratios 260/280 y 260/230. El uso del Bioanalyzer 2100 nos dará unos perfiles que nos permitirán analizar la integridad o degradación y posible contaminación del RNA con DNA genómico.

#### Material y Métodos:

En este estudio hemos extraído 40 muestras de células criopreservadas con dos métodos diferentes: 20 muestras de tejido han sido extraídas con Trizol y las otras 20 muestras con un kit de purificación de RNA (Qiagen). Las lecturas de las concentraciones se han realizado con un espectrofotómetro, el Nanodrop ND1000, basado en la absorbancia. Para poder ver la el grado de degradación del RNA extraído la presencia o no de DNA genómico, utilizamos el Bioanalyzer 2100 de Agilent Technologies. El software calcula dos parámetros numéricos que indican la integridad del RNA: la relación entre los RNA ribosómicos 28S, 18S y 5S, y el número RIN (RNA Integrity number). El parámetro RIN fue desarrollado por Agilent Technologies con el fin de estandarizar el proceso de interpretación de la integridad del RNA. El algoritmo del RIN permite la clasificación de las muestras de RNA eucariótico total en base a un sistema numérico de 1 al 10, siendo 1 el valor para una muestra de RNA totalmente degradada y 10 el valor obtenido para una muestra intacta. Este sistema permite comparar cuantitativamente la integridad de todas las muestras de RNA del experimento, ya que para que los resultados de microarrays sean comparables todas las muestras deben tener una calidad similar. Por otro lado, permite analizar el grado de contaminación de DNA genómico de las muestras de RNA.

#### Resultados:

El rango de valores de RIN que se obtuvieron para las muestras extraídas con Trizol fue de 7.4-9.4, mientras que en el caso de las columnas de Qiagen, el rango de los valores de RIN fue de 9.4-10. Además, las muestras de RNA extraídas mediante columna de Qiagen presentaron un RIN (9.71+/- 0.23) significativamente superior a la que mostraron las muestras extraídas mediante Trizol (8.75+/- 0.46) ( $p < 4 \times 10^{-10}$ ).

En nuestra serie también hemos detectado que en el 15% (3 de 20) de las muestras extraídas mediante Trizol se detectó en el electroferograma del Bioanalyzer 2100 la presencia de un perfil anómalo compatible con la presencia de ADN genómico. En ningún caso de las muestras extraídas mediante columnas se observó la presencia de DNA genómico. Los electroferogramas también mostraron diferencias en los fragmentos de bajo peso molecular, de tal forma que el pico correspondiente al 5S solo era detectable en las muestras aisladas mediante Trizol.

#### Conclusiones:

Nuestros resultados sugieren que la extracción mediante columnas de Qiagen permite obtener de forma reproducible muestras de RNA de mayor calidad que cuando se utiliza el protocolo de extracción mediante Trizol. Además, el sistema de columnas parece evitar la presencia de DNA genómico contaminante de forma más robusta que la extracción por Trizol, la cual puede ser dependiente de la precisión del técnico durante el protocolo de extracción.

Finalmente un aspecto a considerar a la hora de seleccionar una metodología de extracción será el tipo de análisis que el investigador desee hacer. En este sentido el uso de columnas sería incompatible con la utilización de las muestras de RNA para el estudio de micro-RNAs.

En nuestro estudio el Bioanalyzer ha mostrado su utilidad en un laboratorio de biología molecular para la estandarización de protocolos básicos como la extracción de RNA. Nos permite trabajar con una cantidad reducida de muestra, de forma rápida y con un coste asumible.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 244**

### **DETECCION DE UNA DUPLICACION DEL GEN SOX3 (XQ26.3) EN UNA FAMILIA CON RETRASO MENTAL LIGADO AL CROMOSOMA X.**

*Autor/a/s:* Yolanda Peláez Nora, Matilde Romero Zarco, Ana Tomás Suarez, Raquel FernandezGuillermo Antiñolo, Salud Borrego.

*Centro de trabajo:* Unidad de Gestión Clínica de Genética, Reproducción y Medicina Fetal. Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla.

*Provincia:* Sevilla

*Correo electrónico del primer firmante:* yolandapelaez@yahoo.co.uk

#### Introducción:

El retraso mental (RM) se define como una incapacidad en el desarrollo de las actividades cognitivas y en la adquisición de un nivel de inteligencia que sería el apropiado para un determinado grupo de edad. Los defectos ligados al cromosoma X representan hasta el momento la causa más común de RM de origen genético, y constituyen el 5% del RM en general, y el 30% de los RM en varones. En los últimos años y gracias a los avances tecnológicos, se ha puesto de manifiesto que una de las causas más significativas de RM idiopático son las anomalías cromosómicas crípticas, es decir, aquellas no detectables mediante cariotipo normal ni de alta resolución, muchas de ellas ubicadas en el cromosoma X. Algunas técnicas de elección para la detección de dichos reordenamientos son FISH (Fluorescent In Situ Hybridization), MLPA (Multiple Ligation probe Amplification)

y, con una cobertura mucho mayor, los arrays CGH (Comparative Genomic Hybridization).

#### Metodología:

En este estudio presentamos una familia con cinco miembros varones con RM y rasgos dismórficos. Todos ellos son hermanos por vía materna, pero no por vía paterna, lo que sugiere claramente un tipo de herencia ligada al cromosoma X. Excepto por uno de los hermanos que presentaba trisomía 21 (Síndrome de Down), para el resto el cariotipo era normal y el diagnóstico molecular del síndrome de Fragilidad de cromosoma X había sido negativo. Nuestra Unidad realizó el estudio de esta familia mediante una combinación de MLPA para el análisis de síndromes microdelecionales/microduplicacionales más frecuentes (SALSA P0245, MRC Holland) y arrays CGH con cobertura de todo el genoma (Cytoarray Plus 250K, Bioarray).

#### Resultados:

El análisis por MLPA de los 5 hermanos reveló la presencia de una deleción 17q21.31 (OMIM# 610443) pero sólo en uno de ellos, quizá el que presentaba una clínica más agresiva y dismorfias más marcadas. Por consiguiente realizamos el estudio de arrays para encontrar alguna otra alteración que segregara con el cuadro de RM observado en todos los hermanos. Como resultado se detectó la presencia de una microduplicación de aproximadamente 7 Kb en la región Xq26.3 en todos los hermanos. Este rearrreglo afecta parcialmente al gen SOX3 (OMIM \*313430), cuyas mutaciones se han asociado a retraso mental acompañado de hipopituitarismo.

#### Conclusiones:

Hemos identificado las causas moleculares del cuadro de RM que afecta a algunos miembros varones de esta familia. Mientras que en más del 95% de los casos el síndrome de deleción 17q21.31 aparece como un evento de novo, con lo que el riesgo de recurrencia es prácticamente inexistente, en el caso de la microduplicación en X se evidencia que todos los hermanos la han heredado por vía materna. La detección de dicha duplicación tiene una gran importancia para la seguridad reproductiva de las mujeres de esta familia susceptibles de ser portadoras de la misma, por lo que se recomienda su estudio molecular. Los beneficios de la familia son fundamentalmente que para aquellas mujeres que resulten portadoras es posible ofrecerles diagnóstico prenatal o diagnóstico preimplantacional. Con este estudio se pone de manifiesto la conveniencia del uso de estrategias combinadas de distintas técnicas para la identificación y caracterización molecular de los rearrreglos implicados en este tipo de síndromes.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 255**

### **QUIMERISMO HEMATOPOYÉTICO EN EL TRASPLANTE ALOGÉNICO. SEGUIMIENTO DEL PACIENTE PRE Y POST-TRASPLANTE.**

*Autor/a/s:* Gil Galochino, M<sup>a</sup> Carmen; Viedma Beltrán, Adriana; Robles Solano, Maitane

*Centro de trabajo:* Clínica Universidad de Navarra Localidad: PAMPLONA

*Provincia:* Navarra

*Correo electrónico del primer firmante:* mcgil@unav.es

#### Resumen:

El término quimerismo, en el contexto del trasplante, se refiere a la presencia de células hematopoyéticas no propias del receptor, que aparecen en él como resultado de un trasplante alogénico (procedente de un donante). Mediante determinaciones secuenciales del quimerismo hematopoyético se puede saber la proporción relativa de células del donante y del receptor conseguida tras la realización del trasplante, así como su evolución. El objetivo de este trabajo es analizar la evolución de varios casos clínicos en función de su químera.

El método utilizado es el análisis de marcadores microsatélites (STR) por PCR, que permite amplificar e identificar marcadores STR de los cromosomas autosómicos altamente específicos para cada individuo, además de secuencias específicas de los cromosomas X o Y (gen de la amelogenina). El kit empleado es AmpFI STR® Identifier® de Applied Biosystems, que permite identificar 15 STR en una reacción de PCR multiplex. La sensibilidad del kit permite la amplificación de cantidades muy pequeñas de DNA; lo que hace que la manipulación de estas muestras deba ser meticulosa. La calidad, pureza y cantidad del DNA serán las que marquen la eficiencia de la amplificación por PCR. La falta de amplificación puede ser debida a degradación del DNA, presencia de inhibidores de la PCR, cantidad insuficiente de DNA, o una combinación de estos factores. La cuantificación del DNA es importante, ya que el rango de resultados óptimos se obtiene con cantidades de 0,5 a 1,25 ng de DNA.

La separación y detección de los productos amplificados se lleva a cabo mediante un secuenciador ABI3130XL (Applied Biosystems) y análisis de datos con el software GeneMapper.

Las muestras analizadas son médula ósea, sangre periférica total, y las fracciones CD3 y CD15, extraídas en diferentes puntos del seguimiento del paciente. El DNA de dichas muestras se extrae automáticamente mediante el sistema MagNapure.

La 1ª extracción se hace previa al trasplante en donante y receptor, estableciendo así el número y tipo de marcadores de seguimiento que se van a utilizar. La 2ª extracción, T+28, se realiza en el receptor (quimera) para evaluar el trasplante. Las posteriores extracciones están establecidas en el protocolo y pueden variar según la evolución.

Teniendo en cuenta el tipo de marcador se calcula el porcentaje de células del donante detectadas en el receptor post-trasplante, en diferentes extracciones seriadas a lo largo del tiempo. Estos resultados se comunican al Hematólogo responsable, pudiendo éste seguir la evolución del paciente y valorar el tratamiento. En este trabajo se ha recogido la evolución de varios casos clínicos con esta técnica.

El estudio del quimerismo hematopoyético se ha convertido en una importante herramienta clínica de evaluación del trasplante. Mediante estos estudios, se puede conocer si el sistema hematopoyético del donante ha sido capaz de implantarse en el receptor. El empleo de este kit combinado con el análisis por fragmentos permite una optimización de la respuesta, acortando los tiempos de análisis.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 274

### AISLAMIENTO DE CÉLULAS CD133+ PARA SU UTILIZACIÓN EN ISQUEMIA CRÍTICA DE EXTREMIIDADES INFERIORES.

*Autor/a/s:* M<sup>a</sup> Teresa García Montes; Eva M<sup>a</sup> Lorenzo Iglesias; Manuel Herrero Martín; Rebeca Ortega; Eva M<sup>a</sup> Villarán Ríos; Natalia López Holgado; Olga López Villar; Sandra Mutián; Fermín Martín Guijo; M<sup>a</sup> Consuelo del Cañizo

*Centro de trabajo:* Hospital Clínico Universitario

*Provincia:* Salamanca

*Correo electrónico del primer firmante:* mtgm23@hotmail.com

#### Resumen:

La isquemia o insuficiencia arterial crónica es el producto de una progresiva disminución de aporte sanguíneo por el desarrollo y evolución de lesiones estenosantes. Aproximadamente el 90% de las lesiones arteriales crónicas de los miembros inferiores son de origen aterosclerótico. En el momento actual, la terapia celular es una alternativa que presenta grandes perspectivas en el tratamiento de diferentes enfermedades, entre las que se incluyen enfermedades cardiovasculares.

#### Objetivo:

Selección y enriquecimiento de células progenitoras hematopoyéticas CD133+ humanas procedentes de sangre periférica movilizada con G-CSF para su posterior aplicación en pacientes que presentan isquemia crítica de miembros inferiores.

#### Material y Métodos:

En nuestra unidad de producción se han procesado muestras procedentes de 4 pacientes varones (63-78 años) a los que se realizó leucaféresis en el Servicio de Banco de Sangre.

A partir del producto de leucaféresis se realizó el aislamiento de las células CD133+ utilizando para ello el kit de aislamiento de Miltenyi Biotec con el Clinimacs. Las células CD133+ aisladas se resuspendieron en 10ml de suero fisiológico suplementado con 1% de albumina y se envasaron en jeringa para su traslado a la zona quirúrgica. Previo a la infusión se analizó la pureza de la población obtenida por citometría de flujo. Además, el producto final fue sometido a los controles microbiológicos previstos en los PNTs de nuestra Unidad de Producción.

#### Resultados:

En 1 de los 4 pacientes no conseguimos obtener un número adecuado de células tras la leucaféresis. En los tres casos restantes, los resultados obtenidos tras la selección positiva se muestran en la tabla.

PACIENTE	PESO	% CD133+	Nº TOTAL CD133+	Nº CD133+/Kg
1	78 Kg	82,5	71,6x106	0,9x106
2	66 Kg	No movilizó		
3	78 Kg	99,7	82,15x106	1,05x106
4	73 Kg	99,98	120,37x106	1,6x106

Los controles microbiológicos fueron correctos en todos los casos.

#### Conclusiones:

En las tres muestras seleccionadas conseguimos aislar un número superior de células CD133+ al establecido como umbral mínimo en el ensayo clínico (0,5x106CD133+/Kg). No existieron incidencias relacionadas con el proceso de aislamiento tras la infusión de las células en los pacientes.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 313

### COMPARACIÓN DE DOS MEDIOS DE CULTIVO PARA EL LAVADO OVOCITARIO EN EL LABORATORIO DE FECUNDACIÓN "IN VITRO"

*Autor/a/s:* Mar Martínez Morales, Blanca Gadea Navarro, María Roldán Ramírez, Inmaculada Pérez Cano, Lorena Muela García, Nicolás Garrido Puchalt, Manuel Muñoz Cantero.

*Centro de trabajo:* IVI. Alicante Localidad: ALICANTE

*Provincia:* ALICANTE

*Correo electrónico del primer firmante:* mdlmar.martinez@ivi.es

#### Introducción:

Conseguir las condiciones de cultivo óptimas en los distintos estadios del desarrollo embrionario es una tarea fundamental en los laboratorios de reproducción asistida. Sabemos que la composición del medio de cultivo, la concentración de bicarbonato sódico y el nivel de CO<sub>2</sub> en la atmósfera determinan el pH final de un medio equilibrado. Durante la punción folicular el ovocito sufre cambios en sus condiciones ambientales, el pH aumenta al entrar en contacto con el aire y en ausencia de CO<sub>2</sub> lo que se traduce en estrés celular pudiendo afectar al posterior desarrollo embrionario y resultado final del tratamiento. Sin embargo, existen medios de cultivo enriquecidos con tampones que mantienen estable el pH, aunque el uso de estos tampones podría producir toxicidad a nivel celular.

#### Objetivo:

El objetivo de nuestro trabajo fue comparar la viabilidad de los embriones y los resultados clínicos obtenidos después de realizar el lavado de los ovocitos en la punción folicular con un medio de cultivo tamponado (GLOBAL WITH/HEPES) y otro medio libre de tampón (GLOBAL FOR FERTILIZATION).

#### Material y Métodos:

Estudio prospectivo randomizado realizado en la clínica IVI Alicante desde Enero hasta Septiembre de 2011 en el que se incluyen un total de 252 pacientes sometidas a tratamientos de reproducción asistida. La edad media de la población estudiada fue de 39 ± 4,8 años y el promedio de ovocitos obtenidos en punción por paciente fue 12,59 ± 4,2 ovocitos. Clasificamos a las pacientes en dos grupos según el medio de lavado utilizado en la punción folicular: Grupo FERT (n=124) y Grupo HEPES (n= 128) independientemente de la técnica de fecundación utilizada. Comparamos tasa de fecundación y media de embriones transferidos y congelados según el medio utilizado, así como los resultados clínicos obtenidos.

El análisis estadístico incluye una T-Student (p<0,05) para comparación de medias y una Chi-cuadrado (p<0,05) para comparar proporciones.

#### Resultados:

Analizando nuestros resultados determinamos que no se observan diferencias significativas en la calidad embrionaria y en los resultados clínicos al utilizar el medio con o sin tampón para el lavado de los ovocitos.

n:252	Grupo FERT	Grupo HEPES	p
Nº de ciclos	124	128	ns
Nº de transferencias	108	107	ns
Fecundación (%)	70,89	70,81	ns
Media embriones transferidos	1,59 ± 0,72	1,43 ± 0,77	ns
Media embriones congelados	0,74 ± 1,14	0,93 ± 1,45	ns
Gestación evolutiva/transfer (%)	41,7	44,9	ns
Tasa implantación (%)	36,11	36,32	ns

#### Conclusiones:

Podemos concluir que trabajar en un laboratorio de FIV con medios tamponados nos facilita el manejo de gametos fuera de los incubadores sin afectar al posterior desarrollo embrionario y resultados clínicos.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 314

### RELACIÓN DE LA CINÉTICA EMBRIONARIA Y LA CRIOPRESERVACIÓN SEMINAL

*Autor/a/s:* Mar Martínez Morales, María Roldán Ramírez, Lorena Muela García, Blanca Gadea Navarro, Marcos Meseguer Escrivá, Noemí Galindo Mateu, Manuel Muñoz Cantero, Inmaculada Pérez Cano.

*Centro de trabajo:* IVI. Alicante

*Provincia:* Alicante

*Correo electrónico del primer firmante:* mdlmar.martinez@ivi.es

## Introducción:

La criopreservación de semen es una práctica habitual en los centros de reproducción asistida. Las indicaciones más frecuentes son: conservar las muestras de donantes de semen, preservación de la fertilidad en pacientes que van a someterse a quimioterapia ó radioterapia, vasectomía ó motivos personales. La morfología y los tiempos de división embrionaria se consideran indicadores del potencial de desarrollo y se aplican para la selección embrionaria. Recientemente en los laboratorios de reproducción asistida se ha incorporado una nueva tecnología que nos permite examinar de forma no invasiva la cinética embrionaria y estudiar la influencia seminal en el desarrollo embrionario.

## Objetivo:

El objetivo de nuestro trabajo fue determinar mediante un sistema de análisis de imagen integrado Embryoscope® (Unisense Fertiliteltech, Aarhus, Dinamarca), cómo influye la criopreservación espermática en la cinética de división embrionaria en los tratamientos de FIV (fecundación "in vitro") e ICSI (microinyección intracitoplasmática de espermatozoides).

## Material y Métodos:

Se realiza un estudio retrospectivo en nuestro centro IVI.Alicante, en el que se analizan 837 embriones procedentes de 110 ciclos incluidos en nuestro programa de ovodonación en un período comprendido entre Octubre de 2010 hasta Diciembre de 2011. La media de ovocitos por paciente fue de 13,12. Los clasificamos en cuatro grupos: Semen congelado FIV (n=98), Semen fresco FIV (n=284), Semen congelado ICSI (n=209) y semen fresco ICSI (n=246) en función del origen de los espermatozoides y de la técnica de fecundación empleada. Con el Embryoscope® se evalúan los siguientes parámetros: tiempo de desaparición de los pronúcleos (DPN), tiempo de división a dos células (T2), tiempo de división a cuatro células (T4), tiempo de división a seis células (T6), tiempo de división a ocho células (T8) y formación del blastocisto (B). Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante un test ANOVA, p<0,05

## Resultados:

En el grupo de FIV, existen diferencias significativas en la formación del blastocisto (B) siendo el timing de estos embriones menor cuando utilizamos semen fresco (Tabla 1). Sin embargo, para el grupo ICSI encontramos diferencias significativas en los tiempos para DPN, T2 y T8 siendo mayor en los embriones procedentes de semen fresco (Tabla 2).

Tabla1.\* diferencias significativas, test Anova p<0,05

Tiempo de división (FIV) n:382	Semen fresco FIV	Semen congelado FIV	p
DPN (h)	24,78 ± 0,18	25,25 ± 0,28	0,19
T2 (h)	28,14 ± 0,79	28,34 ± 0,39	0,88
T4 (h)	40,65 ± 0,34	41,62 ± 0,56	0,14
T6 (h)	54,36 ± 0,44	55,64 ± 0,88	0,17
T8 (h)	58,96 ± 0,47	59,97 ± 0,96	0,32
B (h)	101,65 ± 0,65*	105,04 ± 1,21*	0,01

Tabla2.\* diferencias significativas, test Anova p<0,05

Tiempo de división (ICSI) n:455	Semen fresco ICSI	Semen congelado ICSI	p
DPN (h)	24,91 ± 0,20*	24,21 ± 0,23*	0,02
T2 (h)	27,87 ± 0,27*	26,87 ± 0,27*	0,01
T4 (h)	40,95 ± 0,43	40,17 ± 0,44	0,21
T6 (h)	54,66 ± 0,54	53,21 ± 0,72	0,10
T8 (h)	59,60 ± 0,49*	56,71 ± 0,61*	0,00
B (h)	104,58 ± 0,74	104,09 ± 0,84	0,66

## Conclusiones:

El uso del Embryoscope® permite determinar de forma continuada los tiempos de división embrionaria mediante la tecnología de time-lapse lo que nos facilita la selección de embriones con mayor potencial de implantación. Los resultados obtenidos muestran rangos de tiempo muy similares para los tiempos estudiados lo que nos permite concluir que el desarrollo embrionario no se ve afectado por la criopreservación espermática.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 341

## PROTOCOLO DE DIAGNÓSTICO GENÉTICO DEL RETRASO MENTAL NO FILIADO: UTILIDAD DE LOS ARRAYS DE SNPS/CNVs.

Autor/a/s: García de Cáceres Mayte, Herrera Moreno Trinidad, Méndez Pérez Pilar,

Aránzazu Margallo Balsera, Plácida Sánchez Giralt, Núñez Estévez Manuela, Sáenz Hurtado Julia, Carbonell Pérez José María, Barros Angueira Francisco, Galán Gómez Enrique, Rodríguez López Raquel.

Centro de trabajo: Unidad de Genética, Hospital Infanta Cristina

Provincia: BADAJOZ

Correo electrónico del primer firmante: micirra@gmail.com

## Introducción:

El retraso mental (RM) es una enfermedad heterogénea que afecta del 1 al 3% de la población general. En los últimos años se han descrito nuevas entidades clínicas tras la detección de microdeleciones/microduplicaciones mediante la hibridación del ADN en micromatrices de análisis genómico completo; nuevas correlaciones genotipo-fenotipo han obligado a revisar el diagnóstico y el consejo de los pacientes con fenotipos sindrómicos. El uso de tales plataformas ha reducido

el porcentaje de los casos de RM idiopático, cifrado en un 50%, clasificando grupos de pacientes según sus agentes genéticos causales y otros con una base verdaderamente desconocida. Su descripción clínica y familiar exacta ampliará el conocimiento de la etiología del RM, señalando otros posibles mecanismos como los epigenéticos y los ambientales en la producción de las alteraciones del neurodesarrollo.

## Objetivos:

Evaluación del algoritmo de diagnóstico establecido en nuestro Área de Salud para los pacientes con discapacidad intelectual de causa desconocida. Clasificación de los casos según su correlación genotipo/fenotipo y caracterización molecular de las alteraciones cromosómicas detectadas, mediante microarrays de SNPs/CNVs. Descripción fenotípica de los pacientes con resultados normales tras el análisis completo.

PACIENTES Y MÉTODOS: Evaluamos 54 casos remitidos a nuestra consulta de genética por retraso mental no filiado asociado a dismorfia craneofacial y/o malformaciones congénitas, algunos con estudios genéticos previos negativos dirigidos por las evidencias fenotípicas del paciente. Efectuamos cariotipo de alta resolución, test de metilación de la región Prader-Willi/Angelman, estudio molecular de la región de repeticiones CGGs de FMR1 asociada a Síndrome (S) del cromosoma X Frágil y/o técnica de arrays de alta densidad Affymetrix® Cytogenetics Whole-Genome 2.7M/Cytoscan.

## Resultados:

33 pacientes mostraron cariotipos de alta resolución alterados; en 18 de ellos aplicamos las técnicas de array para la caracterización molecular de las mismas, descartamos en 1 paciente la sospecha de duplicación en la región 15q11-13, en 5 casos se descartó la utilidad del estudio mediante array y 9 casos continúan en estudio. Entre los 21 casos con cariotipo convencional normal, identificamos mediante array alteraciones citogenéticas con clara capacidad deletérea en 4 de ellos. Completamos el protocolo de estudio en los 17 pacientes aún negativos e identificamos 6 pacientes portadores de alelos mutados en el gen FMR1 (2 de ellos con fenotipos Prader Willi-Like). 5 de estos casos continúan en estudio de secuenciación dirigida por otras sospechas diagnósticas.

## Conclusiones:

A pesar del avance de las técnicas de diagnóstico genético, la heterogeneidad de las bases genéticas del retraso mental no filiado precisa de una previa valoración exhaustiva de cada fenotipo y de su posible heredabilidad. La selección de pacientes con fenotipos extremos nos ha permitido identificar la base genética causal en la mayoría de nuestra serie, siendo los casos con dismorfia definida como de apariencia sólo inusual, los que resultaron ser portadores de microdeleciones/duplicaciones no detectables en el cariotipo de alta resolución; en ocasiones su interpretación fue extraordinariamente difícil. El estudio de los familiares resulta entonces esencial para el consejo, manejo y seguimiento clínico de estos pacientes. En el conjunto de los casos que finalmente resultaron idiopáticos, el fenotipo coincidente fue en un 78% el trastorno del espectro autista (TEA) con RM y dismorfias de leves a moderadas. Las técnicas de ultrasecuenciación para exoma completo permitirán en el nuevo grupo de RM no filiado, el detectar mutaciones causales únicas o de moderado riesgo, ampliando la posibilidad de diagnóstico en este grupo.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 349

## RELACIÓN ENTRE LOS POLIMORFISMOS DEL RECEPTOR DE LA LEP-TINA (LEPR) LYS656ASN Y DE LA PROTEÍNA FIJADORA DE ÁCIDOS GRASOS INTestinal (FABP2) ALA54THR Y FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN UN MODELO DE INTERACCIÓN GÉNICA EN PACIENTES OBESOS.

Autor/a/s: CONDE VICENTE ROSA, PRIMO MARTÍN DAVID

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO RÍO HORTEGA

Provincia: VALLADOLID

Correo electrónico del primer firmante: rosa-conde@telefonica.net

## Objetivos:

Diferentes estudios han señalado la asociación de los polimorfismos Lys656Asn del LEPR y

Ala54Thr de la FABP2 con enfermedades como obesidad, diabetes mellitus e hiperlipemia. El objetivo de este estudio es analizar su efecto e interacción sobre variables bioquímicas de riesgo cardiovascular y tensión arterial basales en pacientes obesos (Índice de Masa Corporal, IMC>30Kg/m<sup>2</sup>).

#### **Metodología:**

Se obtuvieron muestras de DNA de 103 hombres y 299 mujeres (edad, 43,9±15,7 años; rango, 14-81) y se realizaron ensayos de PCR a tiempo real en el termociclador iCycler IQ (Bio-rad®) optimizado para la discriminación alélica de los SNPs en estudio. Los pacientes fueron clasificados según sus genotipos (no mutación, mutación aislada de LEPR, mutación aislada de FABP2 o ambas mutaciones) y se analizaron tensión arterial (sistólica, diastólica) y marcadores sanguíneos de riesgo cardiovascular (lípidos, insulina, índice de resistencia a la insulina-HOMA, glucosa y hemoglobina glicosilada).

#### **Resultados:**

Las mutaciones analizadas presentaron frecuencias alélicas del 19,3% (LEPR) y el 26,9% (FABP2). En el análisis de interacción las mutaciones aparecieron en el 21,4% de los casos (LEPR), el 30,6% (FABP2) y el 14,7% (FABP2+LEPR), sin diferencias entre hombres y mujeres. No se detectó ninguna mutación en el 33,3% de los casos. Por lo que respecta al sexo femenino la mutación LEPR se asoció a una mayor Lp(a) ( $p=0,032$ ); este efecto se potenció en el grupo de mutación LEPR+FABP2. En cuanto al sexo masculino, la mutación LEPR se asoció a una reducción de colesterol total ( $p=0,019$ ), LDL ( $p<0,05$ ) y HDL ( $p=0,004$ ). Analizado el grupo LEPR+FABP2 se observó el mismo efecto para el HDL ( $p=0,027$ ); sin embargo, la suma de mutaciones LEPR+FABP2 no redujo el colesterol basal y LDL como la mutación aislada de LEPR, sino que presentó un efecto semejante al de la mutación FABP2.

#### **Conclusiones:**

La prevalencia de las mutaciones en nuestra muestra es semejante a las descritas previamente, con diferencias sexuales en los efectos del polimorfismo para LEPR sobre el metabolismo de los lípidos, contrarrestadas en parte por los efectos del polimorfismo FABP2, como puede observarse en el análisis de interacción. El diseño de futuros estudios teniendo en cuenta las diferencias sexuales y las posibles interacciones gen-gen debe ser prioritario para aclarar las discrepancias existentes en la literatura.

# HEMATOLOGÍA

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 012

## BANCO DE SANGRE: LA SUMA DE TODOS

*Autor/a/s:* García Cancho Laura, García Martín Laura, Lados Martín Mireia, Naranjo Fernández Marta.

*Centro de trabajo:* Hospital Público de Torrejón de Ardoz

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* lisis1@hotmail.com

### Introducción:

El Hospital de Torrejón se inaugura en octubre del 2011, para convertirse en centro de referencia de las poblaciones de Ribatejada, Fresno de Torote, Daganzo de Arriba, Ajalvir y Torrejón de Ardoz. En este sentido y para poder dar un servicio de calidad, la Dirección Médica junto a la de Enfermería conforman al equipo que formará el servicio de Hematología y Hematoterapia, y dotan el Laboratorio de Banco de Sangre con todos los recursos necesarios previa a la apertura

### Material y Métodos:

Bajo la tutela de ambas direcciones se establecen, junto a los responsables del servicio, los circuitos, protocolos y procedimientos. En este sentido, el laboratorio cuenta con la peculiaridad de poder contar con todo el personal de enfermería del centro a la hora de transfundir. Para garantizar la formación de los profesionales que intervienen en dicho proceso, se imparten cursos formativos, tanto presenciales como no presenciales, a la totalidad de la plantilla. A su vez, esta singularidad, hace que los técnicos de laboratorio, se conviertan en persona de referencia para el asesoramiento respecto al protocolo de administración de hemoderivados; y a su vez asuman la función de velar por el correcto registro de todos los procedimientos relacionados con la hemovigilancia tanto dentro del laboratorio, como fuera de él, es decir, durante el registro de extracción de muestra y el período de transfusión.

### Resultados:

La actividad transfusional, como tal, se inicia el 7 de octubre del 2011, acumulándose un total de 117 durante ese mes de apertura, 156 durante el mes de noviembre y 206 en diciembre. Así mismo, se recibieron 340 solicitudes, que hicieron un montante de 870 reservas. A 31 de diciembre de 2011 y resultado del seguimiento de los registros, disponemos de 7 correcciones solicitadas, pero pendientes de corrección en la Historia Clínica. Dichas correcciones aluden a modificación de horario de inicio o fin, error en la introducción de la numeración de la bolsa, o de similares características, todas subsanables. Todas ellas fueron registradas y comunicadas para correcta resolución por el personal de banco.

### Discusión:

Los resultados nos muestran que ante las aproximadamente 480 transfusiones realizadas, tan sólo un 2.92% de ellas permanecen a la espera de ser solventadas por medio de acciones correctoras debido a errores meramente informáticos, y que el 1.46% restante se resolvió de forma inmediata mediante el registro de "no conformidades".

Desde banco de sangre, llevamos un control minucioso y exhaustivo de cada transfusión para que todas estas incidencias mejoren, y es vital para nosotros el permanente contacto con el personal de enfermería que, al fin y al cabo, forman también parte de nuestro equipo para que subsanemos cualquier error en el que puedan verse implicados nuestros pacientes.

Aun así, seguiremos siempre trabajando de forma activa y conjunta para desarrollar y mejorar nuevas fórmulas con las que poder asegurar si cabe, más aún la calidad y seguridad de nuestros pacientes.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 018

## 7-AAD: UN MARCADOR FIABLE PARA ESTUDIO DE VIABILIDAD EN EL PRODUCTO DE AFÉRESIS DESCONGELADO

*Trabajo de:* CITOMETRIA DE FLUJO

*Autor/a/s:* Barriopedro Herrera Fabiola, Martínez López Ruth, Vieira Pereira Alejandra, Morales Sanz María Dolores, Pinedo Albiz Blanca, Subirá Pérez Dolores.

*Centro de trabajo:* Hospital General Universitario de Guadalajara Localidad:

*Localidad:* Código Postal: *Provincia:* Guadalajara

*Correo electrónico del primer firmante:* tabiolabarriopedroh@yahoo.es

### Introducción:

en el programa de trasplante autólogo de progenitores obtenidos de sangre periférica, el objetivo es conseguir  $>2 \times 10^6$  células CD34/Kg peso. Su viabilidad se comprueba por citometría de flujo usando la combinación de CD34 y 7-amino actinomicina D (7-AAD). En cuanto a la determinación de la viabilidad post-descongelación, en nuestro centro se ha venido realizando con la tinción de azul Tripán y el recuento al microscopio.

### Objetivo:

Comprobar si el estudio de viabilidad global del producto de aféresis descongelado, usando únicamente el marcaje de células con 7-AAD por citometría de flujo, es un buen índice del prendimiento posterior del injerto.

Diseño: establecer la relación entre la viabilidad global del producto de descongelación medida con 7-AAD por citometría de flujo y el injerto hematopoyético. Este último se definió como  $>500$  neutrófilos/ml sin ayuda de factores de crecimiento y  $>20.000$  plaquetas/ml independientes de transfusión.

### Material:

Entre enero de 2011 y enero de 2012 se estudiaron 20 bolsas del producto de descongelación de 9 pacientes (6 hombres, 3 mujeres) con una mediana de edad 53 años (35-66), diagnosticados de mieloma múltiple (n=5), LNH-T (n=2), E. Hodgkin (n=1) y LNH-B de célula grande (n=1). La mediana de células CD34 vivas infundidas/Kg de peso fue  $2,83 \times 10^6$  (1,8-19,8).

### Método:

0,5 ml del producto descongelado se resuspendió en 4,5 ml de medio de Hanks. A 300 ml de esta mezcla se añadió 2 ml de PBS. Inmediatamente se realizó un lavado a 600g 4 minutos, se retiró el sobrenadante y el pellet se resuspendió en 400 ml de PBS. Este volumen se distribuyó en 2 tubos: uno como control negativo y al otro se añadió 10 ml de 7-AAD. Tras incubar en oscuridad 5 minutos, se realizó una primera adquisición (100.000 eventos) en un FACSCalibur (BDB) con el programa CellQuest (BDB). El tiempo medio de cada adquisición fue 10 segundos. Para garantizar la estabilidad de cada muestra, se realizó una segunda adquisición a los 5 minutos. El análisis se realizó con el programa Paint-A-Gate (BDB), considerando viables el porcentaje de células 7-AAD negativas. En 11/20 casos se contrastó el resultado de citometría con el estudio en paralelo de la viabilidad con azul Tripán. Se determinó el porcentaje de células sin teñir tras la lectura de 400 células al microscopio. Para comparar los resultados obtenidos tras la adquisición en el citómetro a los 5 y 10 minutos y los resultados de citometría y microscopio se utilizó la correlación lineal de Pearson.

### Resultados:

En 16/20 casos (80%), la viabilidad del producto descongelado a los 5 minutos fue  $>85\%$ , en 2 casos fue 75%, y en los 2 casos restantes (mismo paciente) 57% y 58%. En este último caso se realizó un estudio adicional de viabilidad con CD45/CD16/7-AAD y se comprobó que el 81% de las células muertas eran neutrófilos. La diferencia entre la viabilidad medida a los 5 y a los 10 minutos fue  $<5\%$  en todos los casos, demostrándose una fuerte correlación estadística ( $r:0,97$ ; 95% IC: 0,94-1,01). En los casos con un estudio de viabilidad en paralelo por microscopio, las diferencias entre ambas técnicas fueron  $<7\%$  ( $r: 0,95$ ; 95% IC: 0,92-1,29). En todos los pacientes hubo prendimiento del trasplante, con una mediana de 10 días (9-12) para los neutrófilos y 13 (11-15) para las plaquetas.

### Conclusiones:

1- El marcador 7-AAD es un método rápido y fiable para determinar la viabilidad global en el producto de aféresis descongelado. 2- En nuestra experiencia sólo sería necesario incorporar otros anticuerpos monoclonales cuando la viabilidad con 7-AAD sea  $<75\%$ . 3- El estudio con 7-AAD es rápido, económico y permite evaluar un gran número de células. 4- A diferencia del azul Tripán, la viabilidad por citometría de flujo no está condicionada por el tiempo empleado en el procesamiento de la muestra.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 029

## ESTUDIO DE ANTITROMBINA III

*Autor/a/s:* JUANA MORAL MORAL, MARIA FRANCISCA MUÑOZ MARIN, ENCARNACION PUESTES DIAZ, JOAQUINA VISO RODRIGUEZ

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO SAN AGUSTIN DE LINARES (JAEN).Unidad de Gestión Clínica HEMATOLOGIA-HEMOTERAPIA

*Provincia:* JAEN

*Correo electrónico del primer firmante:* juani\_moral\_@hotmail.com

## Introducción:

El tromboembolismo venoso es una complicación frecuente que puede presentarse espontáneamente por deficiencia de antitrombina (AT) III. El objetivo es analizar la importancia práctica que tiene la proteína plasmática conocida como antitrombina III, dado que, algunas veces, se desconoce o exagera su función.

Características: Inactiva la trombina de una manera progresiva en ausencia de heparina, y muestra una cinética de primer orden, lo que depende de las concentraciones relativas de trombina y de AT III.

- Inactiva la trombina en forma irreversible, formando con ella un complejo estequiométrico inactivo en proporción 1:1, en el cual interaccionan los residuos de serina de la trombina, con los de arginina de la AT III. También neutraliza los factores IXa, Xa, XIa, XIIa, que actúan como proteasas en la coagulación sanguínea.

- Un mililitro de plasma normal, contiene 300 unidades de protrombina durante el proceso de coagulación se transforma en trombina. Sin embargo es difícil detectar más de 8 a 10 unidades de trombina durante este proceso, por la rápida neutralización que ejerce la AT III sobre ella. Por otra parte, un mililitro de plasma normal, neutraliza de 750 a 800 unidades de trombina, esto nos indica que la capacidad de neutralización de esta antitrombina es el doble de la producción de trombina, y no se recupera nunca la actividad trombinica del plasma, después de haber sido neutralizada por la AT III.

## Material y Método:

se presenta el estudio de todas las peticiones con estudios de coagulación (AT III) en tubos de Citrato de Sodio (tapón azul), realizadas entre 2008-2011.

## Método:

se realiza en analizador ACL- futura /ACL Advance, ACL 8000/9000/10000 y ACL TOP (Instrumentation Laboratory Company - Lexington, MA 02421-3125 (USA). El método es Cromogénico / DIV, consta de dos etapas:

Un exceso de FXa se añade al plasma citratado en presencia de heparina.

La actividad residual de FXa, se determina partir de la hidrólisis de un sustrato cromogénico FXa, que resulta en la liberación de libre p-nitroanilina, pNA.

La actividad de AT es inversamente proporcional a la cantidad de pNA liberada y se expresa como % ATIII actividad derivada de una curva estándar.

## Reactivos:

Factor Xa reactivo: 6 x 6 ml de FXa bovino, 10 nkat / mL, en tampón Tris pH 8,2, que contiene heparina, estabilizantes y conservantes.

Sustrato cromogénico para FXa: 3x3 ml de sustrato cromogénico FXa en medio de agua con detergente y conservante.

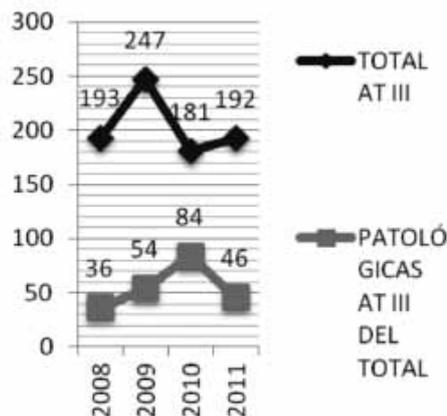
Los niveles circulantes de AT III evalúan dos propiedades de esta proteína: la capacidad funcional de la molécula, lo cual se hace observando el poder de neutralización sobre la trombina o sobre el factor Xa, y la capacidad inmunológica.

## Resultados:

Normalmente la AT III se encuentra en los recién nacidos en niveles menores que en los adultos, debido a un defecto de síntesis por inmadurez hepática. Los niveles de AT III en adultos sanos, presenta poca variabilidad. Los valores de referencia tienen entre ochenta y ciento veinte por ciento. En nuestra sección de Hematología-Hemoterapia del Hospital Universitario S. Agustín de Linares (Jaén), se realizaron un total de 813 determinaciones, durante los periodos 2008-11, de donde se obtuvo: en el 2008 un 18,65%, en 2009 un 21,85%, en 2010 un 46,41% y durante el 2011 un 23,96% de AT III positivas.

## Conclusiones:

- La determinación de AT III, es útil para el diagnóstico y seguimiento del paciente con CID. Los niños desnutridos severos presentan mayor incidencia de fenómenos tromboticos, uno de los factores que pueden contribuir a este hecho es la disminución de la AT III.
- En mujeres con deficiencia conocida de AT III nunca deben usarse anticonceptivos orales (pueden reducir los niveles plasmáticos de AT III del 15 al 21 por ciento).
- La terapia con heparina es menos efectiva en pacientes que muestren disminución de AT III.
- Cada laboratorio debe tener sus propios valores normales y la definición de las unidades de trabajo, por la gran variedad de métodos y unidades que existen al respecto.
- Pensamos que la cuantificación de AT III es una metodología que debe estar presente en todos los laboratorios de coagulación. Los resultados obtenidos permiten afirmar que su realización ha ahorrado tiempo y costes, así como una mayor prontitud y calidad asistencial en el diagnóstico clínico de los pacientes en el Hospital Universitario S. Agustín de Linares (Jaén).



Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 031

## IMPORTANCIA DE LA PREANALITICA EN EL SISTEMA DE HEMOVIGILANCIA

Autor/a/s: PACHECO GOMEZ EVA MARIA, GARCIA RODRIGUEZ INMACULADA

Centro de trabajo: Hospital SAN JUAN DE DIOS ALJARAFE

Provincia: SEVILLA

Correo electrónico del primer firmante: evapa@hotmail.com

## Introducción:

La decisión de transfundir concentrados de hemáties se toma tras la valoración conjunta de varios parámetros: clínica del paciente, valor de la hemoglobina, alternativa eficaz al tratamiento, etc.

La hemoglobina puede sufrir grandes variaciones con mínimas diluciones por medicación, sueroterapia, etc. Por tanto confirmar las cifras de hemoglobina que generan una posible solicitud de hemocomponentes de vital importancia para adecuar la indicación de dicha transfusión.

## Objetivos:

Asegurar la cifra de hemoglobina del paciente subsidiario de transfusión para reevaluar la indicación de la misma, y asegurar el cumplimiento de la Guía de Transfusión Hospitalaria en cuanto a umbrales de hemoglobina con indicación de transfusión.

## Material y Método:

Se estable un protocolo de comprobación de hemoglobinas pretransfusionales de las peticiones "urgentes". En primer lugar, la muestra para Banco de Sangre tenía que ser distinta y para uso único de pruebas transfusionales, con identificación exclusiva, en ella se comprueba cifra de hemoglobina y se compara con la del hemograma previo que ha dado lugar a la solicitud de transfusión. Cuando la cifra entre ambas muestras varía en más de 10 g/L, se comunica al facultativo peticionario y se reevalúa la indicación de transfusión.

## Resultados:

Se analizaron 2098 peticiones de concentrados de hemáties durante el año 2011, de las cuales se seleccionan aquellas con carácter "urgente" (1354). Se comprobaron las hemoglobinas en todas las muestras y se compararon con los hemogramas previos que influyeron en la toma de decisión de transfundir. En 54 casos (3,98%) se detectó una diferencia > 10g/l, se avisó al facultativo y se revaluó la indicación de transfusión. En 46 de los 54 casos se suspendió la transfusión, y en los siete restantes se redujo el número de unidades transfundidas.

## Conclusiones

Para decidir la indicación de transfusión en función del umbral de hemoglobina es necesario asegurar una correcta preanalítica, ya que una cifra de hemoglobina incorrecta (por hemodilución) conlleva a una transfusión inadecuada con el consiguiente riesgo para el paciente.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 037

## VALORACIÓN DEL RIESGO TROMBOEMBOLICO POR EL TIEMPO DE QUICK CORTO Y RELACIONADO CON LA MUTACIÓN GENÉTICA G 20210 A.

Autor/a/s: ANGELES SANCHEZ PORRAS, CARMEN LOPEZ PEREZ, MARÍA DE LOS ANGELES ESTEBAN PEPIÓ, MARÍA LUISA CARCAS ESPINOSA.

Centro de trabajo: Hospital Vall d'Hebron

Provincia: BARCELONA

Correo electrónico del primer firmante: masanchezp73@hotmail.com

## Introducción:

El sistema de la coagulación mantiene un delicado equilibrio entre la trombosis y la hemorragia. La mutación de la base normal (G) por una anormal (A) en posición 20210 del gen del FII (banda p11-q12 del cromosoma 11), situada en el extremo 3' de su último exón, es un frecuente factor de riesgo de tromboembolismo. La razón estriba en el aumento de la producción de trombina debido, quizás, a una mayor cantidad de ARNm de FII, con el subsiguiente incremento en la concentración plasmática de este factor.

Para realizar nuestra evaluación nos basaremos en el Test de Quick (T.Q) que mide el tiempo de coagulación en presencia óptima de extracto tisular (tromboplastina). Valora la vía extrínseca. Factores: VII, V, II, X y el fibrinógeno, siempre que no existan inhibidores de la reacción.

## Objetivos:

Se ha valorado el riesgo tromboembólico por el T.Q. corto y relacionado con mutación genética G 20210 A.

Encontrar un instrumento sencillo que permite valorar con exactitud y objetividad un posible estado de hipercoagulabilidad global.

## Material y Métodos:

### MATERIAL

Coagulómetro AMELUNG CS-400 (cuenta con lectores ópticos-cromogénicos a 405 nm y lectores mecánicos).

150 muestras de pacientes (97 casos con T.Q <120% y 53 casos con T.Q >120%), en tubo de citrato sódico al 3.8%.

Centrífuga.

### MÉTODOS

Los plasmas utilizados fueron Plasma Pobre en Plaquetas (PPP) recogidas sobre tubos VACUTAINER, conteniendo una solución de citrato sódico 0.129 M (3.8%) tamponado a pH=5.4, con un ratio final de 1/9 (1 Vol. citrato de sodio por cada 9 Vol. de sangre).

15 minutos a 2500g (3500 rpm) en centrífuga refrigerada entre 4 y 8 °C.

Tiempo de Quick en segundos: 50 microlitros de plasma decalcificado y centrifugado. Incubación 60 segundos e inicio de test con 100 microlitros de tromboplastina cálcica. Lectura óptica mediante "flex point" a los 30 milieux extensiones de cambio de densidad óptica.

## Resultados:

	<120%		>120%	
	MEDIA	DS	MEDIA	DS
Tiempo Quick NORMAL	114,86	2,76	122,67	2,96
Tiempo Quick DILUIDO	118,1	10,06	137,83	10,69
	nº casos: 9		7 nº casos: 53	

## Conclusiones:

El T.Q. se utiliza fundamentalmente para estudios de riesgos hemorrágicos.

El riesgo tromboembólico existe, es importante y "de moda".

Nosotros ofrecemos un método sencillo, automatizable, exacto y económico. Puede permitir un mejor estudio al problema de riesgos tromboembólicos.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 038**

## GESTIÓN INFORMÁTICA DEL STOCK DE BANCO DE SANGRE. EXPERIENCIA DE UN CENTRO

*Autor/a/s:* Sonia Vicedo Santos / Alejandro Vieira de la Silva Navarro

*Centro de trabajo:* HOSPITAL DEL VINALOPÓ Localidad:

*Provincia:* (ALICANTE)

*Correo electrónico del primer firmante:* svicedo@vinaloposalud.com

## Introducción:

Gracias al creciente desarrollo de las nuevas tecnologías, podemos disponer de instrumentos que nos permiten gestionar nuestro sistema de almacenamiento de manera óptima. Si bien este tipo de programas se ha expandido con éxito en distintos sectores, en el sanitario su introducción ha sido más costosa por motivos principalmente arraigados al modo tradicional de trabajo.

## Objetivo:

Implantar el programa de gestión de almacenes Florence ® en el Laboratorio de Banco de Sangre del Hospital del Vinalopó de forma que nos permita garantizar el desarrollo nuestra actividad con los recursos necesarios/suficientes.

## Material y métodos:

1. Sistema operativo Florence ®.
2. Stock del almacén de banco de sangre vs. almacén general.

En Junio 2010 con la apertura del Hospital del Vinalopó, se procede con la implantación y puesta en marcha del sistema informático Florence ®. Durante 2011, se terminan de configurar los almacenes; y se ajusta el stock necesario para el nivel de actividad, definiéndose el stock máximo y el punto de pedido de cada uno de los productos identificados inequívocamente con un código de referencia o MS (MS00000).

Semanalmente el laboratorio recibe el pedido de material por parte de Almacén General. El técnico de laboratorio (TEL) revisa la coincidencia del material junto al albarán, verificando su adecuación. Cuando se consume (hace uso) de un producto, el TEL lo imputa en el sistema operativo Florence, de manera que si en algún momento la cantidad de ese producto rebasa el punto mínimo (punto de pedido), el sistema genera automáticamente una alarma hacia el almacén general, avisando que el producto en cuestión, debe ser repuesto.

## Resultados:

Las auditorías e inventarios mensuales demuestran la implicación del equipo, al obtenerse resultados de coincidencia entre contaje manual vs informático superiores al 98%.

## Conclusiones:

Durante el año 2011, todos los profesionales del Servicio de Hematología y Hematoterapia se han esforzado en poner en práctica esta herramienta de gestión de almacenes. Lo que a su vez a repercutido en 1) aumentar la rotación de productos.; 2) disminuir el coste del material almacenado; 3) Disminuir la tasa de caducidad de productos; 4) Evitar la rotura de stock y 5) Mejorar el aprovechamiento del espacio físico.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 043**

## DÉFICIT ADQUIRIDO DEL FACTOR X EN PACIENTE CON AMILOIDOSIS PRIMARIA

*Autor/a/s:* MONTSERRAT PRIETO GRUESO, MARÍA LUISA CARCAS ESPINOSA, VERÓNICA PONS ESCOLL, JUAN JOSÉ DIAZ BERNAL.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL VALL D'HEBRON

*Provincia:* BARCELONA

*Correo electrónico del primer firmante:* prietomontserrat@hotmail.com

## Introducción:

Los pacientes con discrasias de células plasmáticas pueden presentar diversas alteraciones de la coagulación.

La amiloidosis primaria se puede asociar a alteraciones adquiridas de la hemostasia secundaria y la fibrinólisis. Aunque en alguna ocasión cursan de manera asintomática puede haber sangrado mayor hasta en un 41% de los pacientes.

El hallazgo más característico es el alargamiento del tiempo de protrombina debido a un déficit de factor X producido por la presencia de inhibidores a la propia absorción del factor por las fibrillas de amiloide. Solamente un 2.5-10% de los pacientes con amiloidosis presentarán déficit de este factor.

## Objetivos:

Se valora un caso clínico en un paciente de 67 años de edad que sin antecedentes médicos destacados derivado a nuestro hospital por pruebas de coagulación básicas alteradas.

## Material y Métodos:

### MATERIAL:

Coagulómetro ACL-9000.

Reactivos: Tiempo de Protrombina (TP), Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (APTT), Factores de la coagulación (Vía Intrínseca y Extrínseca), Fibrinógeno y Reptilase.

Centrífuga: AllegraTM X-22R (BECKMAN COULTER)

### MÉTODOS:

Con el sistema ACL-9000 y mediante test coagulométrico los resultados son transformados en actividad.

La actividad del factor X en el plasma paciente se determina llevando a cabo una prueba modificada del Tiempo de Protrombina (TP). El plasma del paciente se diluye y se añade a un plasma deficiente en factor X. La corrección del tiempo de coagulación prolongado del plasma deficiente es proporcional a la concentración (% actividad) del factor en el plasma del paciente.

## Resultados:

Dada la rareza de la patología describimos los hallazgos analíticos del paciente y los test realizados:

- Tiempo de Protrombina alargado (TP: 12%)
- Se realiza dosificación de factores de la coagulación observándose un déficit grave de

factor X (1-2%). La mezcla con plasma normal normalizaba los valores por lo que es probable que no se trate de un inhibidor.

- Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada alargado (APTT ratio: 2).
- Fibrinógeno y Reptilase dentro de la normalidad.

#### Conclusiones:

El déficit de factor X en pacientes con amiloidosis es una entidad muy poco frecuente y que puede representar un aumento de sangrado en estos pacientes.

- La realización de una coagulación básica y una dosificación de factor X en caso de alteraciones en los pacientes con esta orientación diagnóstica pueden proporcionar al clínico un mejor asesoramiento del riesgo hemorrágico.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 048**

### UTILIDAD DE LA CITOMETRÍA DE FLUJO (CMF) EN MUESTRAS DE TEJIDOS.

Trabajo de: HEMATOLOGÍA

Autor/a/s: AGUILAR RUBIO, JUANA; BAÑAS LLANOS, M<sup>a</sup> HELENA, AMADO MERA, EMILIO

Centro de trabajo: HOSPITAL SAN PEDRO DE ALCÁNTARA Localidad:

Dirección del primer firmante:

Localidad: Código Postal: Provincia: CÁCERES

Correo electrónico del primer firmante: gretasy@hotmail.com

#### Introducción:

El inmunofenotipo por CMF es una herramienta muy útil en el diagnóstico de enfermedades hematológicas, en especial de Linfomas no Hodgkin (LNH). Su ventaja fundamental radica en la posibilidad de aplicar un amplio panel de anticuerpos monoclonales (Ac) y de hacer un diagnóstico rápido.

#### Objetivos:

Nuestro objetivo fue valorar la utilidad de la CMF como técnica complementaria a la citología en muestras de ganglio y tejido extraganglionar obtenidos por biopsia (BT) en relación al resultado del estudio anatomopatológico (método de referencia).

#### Material y Métodos:

Estudiamos 54 muestras de 51 pacientes remitidas a nuestro laboratorio en los dos últimos años con sospecha de linfoma. El primer paso fue mirar al microscopio las improntas de tejidos. Las características citológicas y los datos clínicos (si disponibles) sirvieron para seleccionar el panel de Ac que se aplicó en cada caso; en general, utilizamos combinaciones de colores que incluyen los Ac necesarios para diagnosticar poblaciones linfoides B, T y NK. Los datos citológicos y los obtenidos por CMF se interpretaron de forma conjunta. Los resultados se correlacionaron con el diagnóstico final anatomopatológico.

#### Resultados:

La CMF fue consistente con el diagnóstico en 97.77% de las muestras; no pudo ser útil en 9 casos por material inadecuado o insuficiente.

La CMF permitió un diagnóstico correcto en el 100% de casos de LNH-B y en 2 de 3 casos de LNH-T (en 1 caso, la población tumoral no presentaba aberraciones fenotípicas, aunque la citología era sospechosa de malignidad). Ninguno de los 10 casos de Linfoma de Hodgkin (LH) fue diagnosticado pero, en 5 casos (50%), la citología sugirió el diagnóstico. La CMF no reveló clonalidad B en ningún caso de diagnóstico extrahematológico o linfadenitis reactiva (14 casos). La especificidad y la sensibilidad fueron del 93.3% y 83.3% respectivamente.

#### Conclusiones:

En nuestra experiencia, la CMF ha demostrado ser de gran valor en el diagnóstico de los LNH B y aumenta su rentabilidad en combinación con el examen microscópico de las muestras, especialmente en pacientes con LH.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 050**

### HEMOVIGILANCIA EN BANCO DE SANGRE PARA USO OPTIMO DE COMPONENTES SANGUINEOS.

Autor/a/s: M<sup>a</sup> del Mar Alonso Duran. M<sup>a</sup> del Mar Ruiz Gonzalez. Francisca Berral Baena. M<sup>a</sup> José Donoso Sayago. Ana Dolores García Gutierrez.

Centro de trabajo: Hospital Universitario "Virgen Macarena."

Provincia: Sevilla.

Correo electrónico del primer firmante: maralonso@live.com

#### Introducción:

La hemovigilancia nace de la necesidad de establecer una coordinación equitativa entre la demanda y el consumo real de hemoderivados, con el fin de conseguir un ahorro de componentes sanguíneos y un tratamiento adecuado mediante detección, recogida y análisis de la información sobre los efectos adversos de la transfusión y donación sanguínea. Para ello nos hemos centrado en el servicio de urgencias de este nuestro hospital ya que es donde mas incidencias se detectan al respecto.

#### Objetivos:

- Aumentar los niveles de calidad y seguridad de la transfusión, en toda la cadena transfusional.
- Observar durante un periodo de seis meses el número de solicitudes recibidas de urgencias, con objeto de evitar transfusiones innecesarias, estableciendo para ello un rango transfusional por debajo de 9 gr./dl de hemoglobina y en constante comunicación con el hematólogo responsable de banco de sangre.
- Reducir costos; mayor eficiencia.

#### Material y métodos:

- Estadísticas informáticas de banco de sangre.
- Manejo del programa informático de urgencias de laboratorio (sinergy) para el control de hemoglobinas.
- Capacitación, implicación y satisfacción del personal.
- Recursos humanos.

#### Resultados:

Estudio realizado desde agosto de 2011 hasta febrero de 2012.

Total de peticiones de hemoterapia recibidas en banco de sangre: 3393, de las cuales 560 proceden del servicio de urgencias, representando el 16.5%.

Unidades enviadas a transfundir: 8074, de las cuales 1433 son enviadas y transfundidas en el servicio de urgencias, representando el 17,74%.

De las 560 solicitudes procedentes de urgencias, una vez cotejada la hemoglobina (> 9 gr/dl) y previa consulta con el hematólogo responsable de banco se procede a anularl 160 peticiones del servicio de urgencias con un ahorro de 320 concentrados de hematíes, que representa el 22,3%.

#### Conclusiones:

Con este seguimiento hemos conseguido un ahorro considerable de hemoderivados, así como de material (reactivos, tubos de hemólisis, tarjetas de tipaje, etc.), con el consiguiente aumento de los stoks de sangre.

Se han evitado transfusiones innecesarias, disminuyendo así los riesgos derivados de la misma, incrementándose la calidad en el tratamiento e infusión de hemoderivados.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 051**

### CONSIDERACION DEL CIERRE TRANSFUSIONAL COMO AVANCE EN BIOMEDICINA.

Autor/a/s: Francisca Berral Baena. Ana Dolores García Gutierrez. M<sup>a</sup> José Donoso Sayago. M<sup>a</sup> del Mar Ruiz González. M<sup>a</sup> del Mar Alonso Durán.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen Macarena.

Provincia: Sevilla

Correo electrónico del primer firmante: francis-berral@hotmail.com.

#### Introducción:

El cierre transfusional, a día de hoy es considerado como un avance en biomedicina, ya que con él se consigue un total y absoluto seguimiento desde el inicio hasta la terminación de la transfusión, controlando en todo momento las constantes vitales y el estado general del paciente, así como la certeza de la ó las unidades administradas y la calidad de las mismas.

#### Objetivos:

- Control total y absoluto de los hemoderivados por el banco de sangre, desde que se realizan las pruebas cruzadas hasta que son transfundidas las unidades.(almacenaje, control de temperaturas, transporte, etc.).
  - Tener constatados tanto los datos demográficos del paciente como el estado general del paciente en el transcurso de la transfusión.
  - Reflejar las posibles incidencias que se puedan derivar de la transfusión tales como posibles reacciones transfusionales.
- Todo ello se lleva a cabo mediante la coordinación de tareas, teniendo como referencia la normativa legal, el proceso de soporte de hemoterapia y las entidades científicas.

## Material y metodos:

- Utilización del sistema informático de banco de sangre ( programa de gestión).
- Revisión y anotación de los parámetros de las hojas de infusión.
- Registro para el seguimiento y cierre transfusional (hojas de infusión de hemoderivados).
- Notificación de los resultados obtenidos por los distintos servicios a la comisión de transfusión, dirección del centro, jefatura de bloque y supervisión, mensualmente.

## Resultados:

Para la obtención de los resultados se ha hecho un estudio de tres años 2007-2009 ambos inclusive.

2007-Unidades enviadas a transfundir: 13023.

- Unidades con transfusión confirmada: 6998, lo que supone un 53,74% del cierre transfusional.

2008-Unidades enviadas a transfundir: 14793.

- Unidades con transfusión confirmada: 9987, supone un 67,51% del cierre transfusional.

2009-Unidades enviadas a transfundir: 15375.

- Unidades con transfusión confirmada: 11128, supone un 72,38% del cierre transfusional.

## Conclusiones:

Desde el año 2007 al año 2009 se observa un aumento progresivo e importante en la correcta realización del circuito transfusional, gracias a la concienciación e implicación del personal de banco de sangre junto con el de los demás servicios.

Se reducen considerablemente los errores, los riesgos legales y se mejora la trazabilidad de los productos sanguíneos.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 053**

### **IMPORTANCIA DEL SCATTERGRAMA PARA DIFERENCIAR LAS CÉLULAS B, LAS CÉLULAS T Y LAS CÉLULAS NATURAL KILLER EN EL DIAGNOSTICO DE MONONUCLEOSIS INFECCIOSA.**

*Autor/a/s:* MONTERRAT PRIETO GRUESO, MARÍA LUISA CASCAS ESPINOSA, MARÍA DE LOS ANGELES ESTEBAN PEPIÓ

*Centro de trabajo:* HOSPITAL DE VALL D'HEBRON

*Provincia:* BARCELONA

*Correo electrónico del primer firmante:* prietomontserrat@hotmail.com

#### **Introducción:**

El virus de Epstein-Barr (VEB), un virus DNA, es un herpesvirus, linfotrópico para los linfocitos B y es la causa más frecuente de la mononucleosis infecciosa. Los virus infectan el epitelio de la orofaringe y de las glándulas salivares y se replican en estas células. Las células B son infectadas. A continuación, el virus se disemina a través del torrente circulatorio, el cual contiene en su envoltura una proteína, la gp350 que se une al receptor celular CD21. En el momento de la fase aguda de la enfermedad los linfocitos T y las células asesinas naturales (NK) proliferan en grandes cantidades observándose un aumento. Para el control de la mononucleosis infecciosa, la inmunidad celular es más importante que la inmunidad humoral. Durante la fase inicial, las células T, las células NK y algunas células T citotóxicas inespecíficas son importantes para controlar la proliferación de las células B infectadas. Y se observa un aumento del interferon  $\gamma$ . En una segunda fase se generan células citotóxicas específicas que reconocen los antígenos nucleares del virus de Epstein-Barr y otras proteínas de membrana y que son capaces de destruir las células infectadas. Son raras las ocasiones en que una infección por virus de Epstein-Barr alcanza el grado de linfoma de Burkitt o de carcinoma nasofaríngeo. Por eso, la importancia del Scattergrama en estos casos, es crucial.

#### **Objetivos:**

Valorar si el analizador LH-700 es capaz de detectar en que fase de la enfermedad se encuentra, mediante los algoritmos de análisis, representando en el mapa de dispersión las diferentes células B, T y Natural Killer (NK).

#### **Material y Métodos:**

Material:

Tubo de sangre tratada con EDTA -K3.

Analizador Beckman- Coulter<sup>®</sup> LH-700

Tinción May-Grünwald-Giemsa.

Microscopio Óptico.

Test de aglutinación para la detección de la mononucleosis: (Monospot<sup>®</sup> Látex)

#### **Métodos:**

En base a los datos numéricos y gráficos que nos ofrece el analizador hematológico, seleccionamos una muestra con una leucocitosis de 18,77 x 10<sup>9</sup>/L y linfocitosis de 12,2 x 10<sup>9</sup>/L, de la que se realizó la observación al microscopio óptico y el test de aglutinación para la detección de la mononucleosis.

#### **Resultados:**

Caso clínico de un paciente de 15 años que acude al hospital, por fiebre, inflamación de los ganglios linfáticos y molestia general. En el hemograma apreciamos una elevada linfocitosis. Se realiza frotis sanguíneo al microscopio óptico, encontrando gran porcentaje de linfocitos granulares y poco porcentaje de linfocitos T estimulados vs reactivos. A pesar de ello y en base a la imagen del Scattergrama, la edad del paciente y la elevada linfocitosis se decidió realizar el test de aglutinación dando positivo.

#### **Conclusiones:**

Aunque los linfocitos reactivos son característicos de la mononucleosis infecciosa, hemos observado que la enfermedad puede cursar con gran porcentaje de linfocitos granulares y pocos linfocitos reactivos con apoptosis de los linfocitos. Por eso es muy importante prestar atención a la hora de la validación tanto los datos numéricos y los gráficos que nos ofrece el analizador LH-700, ya que nos aportan mucha información. Aunque siempre que exista duda sobre la veracidad del recuento electrónico de linfocitos debe realizarse un examen de la extensión sanguínea para efectuar la correspondiente comprobación y evitar diagnósticos erróneos recomendando la necesidad de pruebas adicionales (Inmunofenotipo) para los conteos anormales de células T, B y NK que sugieren otra enfermedad y así confirmar el diagnóstico.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 062**

### **CÓMO ASEGURAR LA TRAZABILIDAD DE LA TRANSFUSION: IMPLANTACIÓN DE CIERRE TRANSFUSIONAL EN UN HOSPITAL COMARCAL**

*Autor/a/s:* GARCIA RODRIGUEZ INMACULADA MARIA, PACHECO GOMEZ EVA MARIA,

*Centro de trabajo:* Hospital SAN JUAN DE DIOS ALJARAFE

*Provincia:* SEVILLA

*Correo electrónico del primer firmante:* peskamar@hotmail.com

#### **Introducción:**

Un sistema de hemovigilancia incluye un conjunto organizado de procedimientos de vigilancia relativos a los efectos o reacciones adversas graves en los donantes o receptores, así como el seguimiento epidemiológico de los donantes, sangre y componentes de la sangre, definido como trazabilidad.

Para asegurar la trazabilidad debe existir un registro de todos aquellos pasos que siguen los componentes sanguíneos desde su donación hasta su transfusión en el receptor. Presentamos un sistema de cierre transfusional y resultados tras su implantación pasado un año.

#### **Objetivos:**

Asegurar la trazabilidad de los componentes sanguíneos desde que se reciben del Centro Regional de Transfusiones, hasta la transfusión en el paciente hospitalario.

#### **Material y Método:**

Se estable un protocolo de trazabilidad consistente en : Registro informático de los componentes sanguíneos a su llegada al Hospital (incluyendo control de temperatura), registro de petición con todos los datos exigidos por el Sistema de Hemovigilancia Hospitalario según lo dispuesto en el Real Decreto 1088/2003, comprobación de grupo sanguíneo, pruebas de compatibilidad, entrega del producto, persona que recoge el hemoderivado, Diplomados Universitarios en Enfermería (DUE) que los transfunde y si ha habido o no incidencia durante la transfusión y/o devolución de la bolsa peticionario y se reevalúa la indicación de transfusión, todo ello con registro del Técnico Especialista en Laboratorio (TEL) que registra cada paso.

El sistema informático utilizado para el registro electrónico es Delphyn versión 8.2.13 de la casa Biorad. Se hizo formación activa tanto a Facultativos prescriptores de transfusión, como a TEL y DUEs para el correcto funcionamiento del sistema y se evaluaron resultados obtenidos tras un año.

#### **Resultados:**

Se reciben 3020 unidades de concentrados de hemáties, de las cuales se transfunde 2975, 94 unidades de pool de plaquetas de las que se transfunden 93, y 186 unidades de plasma fresco congelado, transfundiéndose 176.

Tras el análisis de la actividad transfusional de 2011 se obtienen los siguientes resultados.

el 99,76% de los concentrados de hemáties, el 99,4% de las unidades de plasma fresco congelado y el 100% de los pool de plaquetas tenían trazabilidad completa,

## Conclusiones:

Es posible asegurar la trazabilidad de los componentes sanguíneos de un Hospital, siempre y cuando se haga una buena formación del personal, exista predisposición y un buen sistema de registro

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 079

## TEST DE COOMBS DIRECTO EN NEONATOS COMO SCREENING DE ENFERMEDAD HEMOLÍTICA PERINATAL: EXPERIENCIA DEL HOSPITAL NTRA SRA DEL PRADO EN 2011

*Autor/a/s:* Barreiro Castro Belén, Cantalejo Gutiérrez Adolfo, Blázquez Sánchez Rosa, Pérez Peris Isabel, Pérez Fernández Julia, Gómez García Raquel, Lozano Moreno Inés, Pérez Pérez Carolina, Conde Cañamero Montserrat, Simón Pérez Germán Rubén.

*Centro de trabajo:* Hospital Nuestra Señora del Prado

*Provincia:* TOLEDO

*Correo electrónico del primer firmante:* belserena@hotmail.com

## Introducción:

La enfermedad hemolítica del recién nacido por anti-D es hoy una enfermedad infrecuente gracias a la administración de gammaglobulina profiláctica durante el embarazo y postparto a las gestantes Rh negativas. Sin embargo, existe un aumento de gestantes sensibilizadas frente a antígenos diferentes al D, que en ocasiones se detectan en el momento del parto y que pueden tener repercusión en el recién nacido. Los estudios inmunohematológicos que se realizan en el Servicio de Transfusión permiten detectar la posible afectación del neonato.

## Objetivo:

Comunicar las estadísticas de los resultados de la determinación del Coombs directo realizado de manera sistemática a todos los recién nacidos en el Hospital Ntra Sra del Prado durante 2011.

## Material y Métodos:

Se han incluyeron 1416 recién nacidos en nuestro centro de enero a diciembre de 2011. Se realizó el grupo sanguíneo hemático, Rh y Coombs directo en técnica de gel. La muestra utilizada es sangre de cordón umbilical en tubo de EDTA. El estudio se realiza de forma semiautomatizada con el equipo Swing/Saxo de Diamed. Los resultados son transmitidos al programa informático de Hematología Modulab de IZASA.

## Resultados:

Del total de 1416 recién nacidos estudiados en 22 (1,5%) casos el Coombs directo fue positivo, de los cuales 15 (68,1%) son por anti-A materno, 2 (9%) por anti-B materno, 1 (4,5%) por anti-D, 2 gemelos (9%) por anti-D por profilaxis materna y 2 (9%) por anti-E materno. En cuanto a la repercusión clínica 2 (17%) casos de incompatibilidad ABO precisaron fototerapia por hiperbilirrubinemia moderada. El caso de anti-D correspondió a una gestante controlada en otra comunidad a la que se detectó la sensibilización durante la gestación sin realizarse ningún control específico y que precisó la realización de exanguinotransfusión al neonato por anemia (9,6 g/dl) e hiperbilirrubinemia (17 mg/ml). Los 2 casos de sensibilización por anti-E no habían sido detectados durante la gestación ya que no se había realizado el Coombs indirecto a las madres en el tercer trimestre.

## Conclusiones:

La realización sistemática del Coombs directo en neonatos permite detectar casos de enfermedad hemolítica del recién nacido y prevenir o reducir las consecuencias de una hiperbilirrubinemia neonatal y su posterior morbilidad.

La mayoría de los Coombs directos positivos detectados en nuestro centro han correspondido a casos de incompatibilidad ABO materno-fetal y no han tenido repercusión clínica importante.

Los 2 casos de anti-E no detectados durante la gestación ponen de manifiesto la importancia de repetir el Coombs indirecto a las gestantes en el último trimestre del embarazo para detectar sensibilizaciones tardías.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 084

## INCIDENCIA DE LA ENFERMEDAD HEMOLÍTICA DEL RECIÉN NACIDO EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO LUCUS AUGUSTI

*Autor/a/s:* ROSA MARÍA ARIAS GÓMEZ, LUISA CASTRO TERSADO, INES FERREIRO CANEDA, MARIA SOLEDAD LOPEZ PARDO, MARIA ELSA LOPEZ GARCIA

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO LUCUS AUGUSTI (BANCO DE SANGRE)

*Provincia:* LUGO

*Correo electrónico del primer firmante:* rosa.arias.gomez@sergas.es

## Introducción:

Estudio de Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido por incompatibilidad ABO y Rh feto-

materna tras la detección de anticuerpos IgG, con capacidad de atravesar la membrana placentaria. La Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido casi siempre se restringe a neonatos de los grupos A ó B con Rh positivo y madres de grupo O con Rh negativo. La incompatibilidad ABO se atribuye aparentemente al anticuerpo patogénico anti-A,B presente sólo en madres del grupo O.

## Objetivo:

Determinar la prevalencia de anticuerpos IgG en la Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido en el Área Sanitaria de Lugo.

## Material:

Se analizaron de forma retrospectiva mil muestras fetales y mil muestras maternas, en un período de diez meses (30-03-2011 a 30-01-2012) procesadas en la Sección de Inmunohematología, perteneciente a Hematología (Banco de Sangre).

Las muestras de recién nacido de sangre de cordón umbilical en tubo de EDTA K3

Las muestras maternas de sangre periférica, en tubos de EDTA K3 y suero con gel separador.

En la recopilación de datos se utilizaron los programas informáticos Modulab Win y Modulab Gold, así como el programa Calc de la Suite Ofimática Libre Office V.3.3 para tablas y gráficos.

## Método:

Para el estudio y obtención de resultados se emplearon dos técnicas comparativas: automática y manual:

1.-AUTOMATIZADA, con el autoanalizador WADiana Compact:

a) En estudios de Recién Nacido se usaron tarjetas DG Gel Newborn.  
b) En estudios maternos se usaron tarjetas DG Gel ABO/Rh (2D), DG Gel Coombs y DG Gel Neutral. Los reactivos utilizados fueron: Serigrup Diana A/B, Serascan Diana 4 y solución Salina Diana Gel Sol.

2.-MANUAL: técnica en tubo.

a) En estudios de Recién Nacido se realizaron: grupo hemático, Rh y Du. Si Prueba de Antiglobulina Directa positiva, se estudiarán anticuerpos con técnica de elución ácida realizada con Gamma Elukit II.

b) En estudios maternos se realizaron Rh y Du. Si anticuerpos irregulares positivos, se estudió su especificidad con panel de 11 células Identiser Diana, en tarjeta DG Gel.

## Resultados:

En el estudio de estas muestras feto-maternas, se descartaron 688, debido a que 152 estudios de Recién Nacido resultaron grupo O, Rh negativo (que no producen anticuerpos maternos), así como 536 estudios maternos que resultaron isogrupo con Rh positivo (que no producen incompatibilidad ABO ni Rh), siendo el número de incompatibilidades feto-maternas a estudio 312 casos.

De éstos casos:

a) 185 son incompatibilidades ABO (hijos con grupo A ó B, Rh positivo/negativo y madres con grupo O, Rh positivo). En estos estudios, se detectan 33 anticuerpos IgG materno (29 anti-A, 1 anti-B y 3 anti-AB).

b) 86 son incompatibilidades Rh (hijos Rh positivo con madres Rh negativo y ambos isogrupo). Se detectan 7 anticuerpos IgG maternos (7 anti-D)

c) 41 son incompatibilidades ABO y Rh (hijos con grupo A ó B, Rh positivo y madres grupo O, Rh negativo). Se detectaron en 4 casos anticuerpos IgG maternos: 4 anti-A mas anti-D, ningún anti-B mas anti-D y ningún anti-(A, B) mas anti-D.

## Conclusión:

De los 312 estudios feto-maternos valorados se detectaron 44 anticuerpos IgG maternos, no detectándose dichos anticuerpos en 268 casos. Los porcentajes de anticuerpos maternos IgG detectados son: anti-A:2.90%, anti-B: 0.10%, anti-A,B: 0.30%, anti-D:0.70% y anti-ABO más anti-D:0.40%.

Por tanto el porcentaje de Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido en el Área Sanitaria de Lugo, es de baja prevalencia.

## Bibliografía:

Quinley E.D. (1993) INMUNOHEMATOLOGY PRINCIPALES AND PRACTICE. PHILADELPHIA S.B. LIPPINCOT COMPANY.

WAKE R.H. (2007) MANUAL TÉCNICO AA.BB. VIRGINIA.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 094

## TRAZABILIDAD TRANSFUSIONAL EN EL HOSPITAL COSTA DEL SOL. CIERRE TRANSFUSIONAL.

*Autor/a/s:* ARACELI CAMPAÑA MARIN. JOSE ANTONIO DELGADO AGÜERA. AMANDA RUIZ INCOGNITO.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL COSTA DEL SOL Localidad:

Dirección del primer firmante:

Localidad: Código Postal: *Provincia:* MALAGA

*Correo electrónico del primer firmante:* chelicam66@hotmail.com

### Introducción:

Para asegurarnos la trazabilidad de los componentes sanguíneos utilizamos el informe de cierre transfusional (ICT).

### Objetivos:

Digitalizar todos los informes transfusionales y mejorar la actual trazabilidad del circuito transfusional en el Hospital Costa del Sol.

### Material y métodos:

Cada unidad de hemoderivado que se envía desde el Banco de Sangre va acompañada de un impreso (Informe transfusional) con los datos relacionados del paciente y la bolsa, a su vez va firmada por el celador que retira la bolsa, el T.EL que la entrega y por último por el D.U.E que la recepciona en planta.

Una vez que se inicia la transfusión en ese mismo informe se indica el D.U.E que la inicia y el que la finaliza, informando si ha habido reacción transfusional o no; cuando es todo bien cumplimentado se envía el impreso a la historia del paciente y desde archivos se digitaliza. En el laboratorio, mediante Doctor, se imprime una lista de todos los informes digitalizados en el día y un T.E.L hace el cierre transfusional (CT).

Hemos analizado los cierres transfusionales en un periodo de tres años, desde el año 2009 hasta el 2011 inclusive:

	PRODUCTO	TRANSFUNDIDOS	INFORMES CON CT	INFORMES SIN CT
AÑO 2009				
	CH	5160	3936 (76,3%)	1224 (23,7%)
	PFC	612	492 (80,4%)	120 (19,6%)
	PLAQUETAS	456	300 (65,8%)	156 (34,2%)
AÑO 2010				
	CH	5328	4488 (84,2%)	840 (15,8%)
	PFC	372	300 (80,6%)	72 (19,4%)
	PLAQUETAS	348	288 (82,7%)	60 (17,3%)
AÑO 2011				
	CH	6312	5652 (89,5%)	660 (10,5%)
	PFC	696	588 (84,5%)	108 (15,5%)
	PLAQUETAS	504	432 (85,7%)	72 (14,3%)

### Conclusiones:

Como podemos ver el informe de cierre transfusional no se realiza en todas las transfusiones realizadas. Como medida correctora se están realizando reuniones con los distintos servicios desde comienzos del 2012 para la correcta cumplimentación y funcionamiento del informe transfusional y así poder llegar al 100%.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 100**

## RENDIMIENTO DIAGNOSTICO DE UN PROTOCOLO DE ESTUDIO DE LA TROMBOCITOPENIA AISLADA

*Autor/a/s:* MARTINEZ MILAGRO, IRENE; ROBLES AMAYUELAS VERONICA.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL CLINICO

*Provincia:* BARCELONA

*Correo electrónico del primer firmante:* martinezirene81@gmail.com

### Introducción:

La trombocitopenia aislada es una de las causas más frecuentes de consulta en un servicio de Hematología. En nuestro hospital, el protocolo de exploración inicial de estos pacientes comprende el examen microscópico de la extensión de sangre, la búsqueda de causas de pseudotrombocitopenia y la investigación de autoanticuerpos plaquetarios. Este último análisis se realiza por un procedimiento de inmunofluorescencia con lectura visual en el microscopio y comprende la búsqueda de anticuerpos unidos a las plaquetas del paciente, libres en el suero y recuperados del eluido de las plaquetas.

### Objetivos:

El motivo del presente estudio es describir los resultados de mencionado protocolo diagnóstico.

### Material y métodos:

Se revisaron los registros de laboratorio de todos los pacientes remitidos para estudio de trombocitopenia entre los años 2007 y 2011. Los datos se almacenaron y se analizaron en hojas de Excel.

### Resultados:

Se estudiaron 137 pacientes cuya mediana de edad era de 57 años (extremos: 17-88) y que comprendían 80 (58%) mujeres y 57 varones. En el momento del estudio, la cifra de plaquetas era inferior a 100 x 10<sup>9</sup>/L en 102 (75%) pacientes e inferior a 50 x 10<sup>9</sup>/L en 48 (35%).

Se detectaron autoanticuerpos plaquetarios en 23 pacientes. Los anticuerpos fueron de clase IgG aislada en 18 casos, IgG más IgM en 4 y sólo IgM en uno. En cuatro pacientes sólo pudo examinarse el suero debido a que la trombocitopenia era extrema y en ninguno de ellos se detectaron anticuerpos plaquetarios. En otros tres pacientes se hizo el diagnóstico de pseudotrombocitopenia inducida por EDTA.

La cifra de plaquetas no fue significativamente diferente entre los pacientes en los que se demostró la presencia de autoanticuerpos plaquetarios y aquellos en los que no se demostró (medianas: 70,5 x 10<sup>9</sup>/L y 40 x 10<sup>9</sup>/L, respectivamente; p=0.07).

### Conclusiones:

El protocolo de estudio permitió hacer el diagnóstico etiológico de la trombocitopenia en sólo el 19% de los casos. Es posible que una mejor selección de los pacientes que nos son remitidos para estudio aumentase la eficacia diagnóstica.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 115**

## “ESTUDIO COMPARATIVO DE VSG ELEVADA CON CIFRA DE LEUCOCITOS Y PCR”

*Autor/a/s:* Espartosa Mancebo Elena, Galisteo Escorza Elena, Tortajada Castro Ana Belén, Rubín Fernández Tesesa, Sánchez Lucio Ana Cristina, Pérez - Pons de la Villa Concepción.

*Centro de trabajo:* Servicio de Hematología. Hospital Severo Ochoa.

*Provincia:* LEGANES-MADRID

*Correo electrónico del primer firmante:* eespartosa@yahoo.es

### Introducción:

La velocidad de sedimentación globular (VSG) es una prueba analítica análoga a las conocidas como reactante de fase aguda, como lo es la proteína C reactiva o PCR. Esto significa que es un marcador inespecífico, no relacionado con ninguna enfermedad en concreto, cuya elevación implica procesos inflamatorios, infecciosos o neoplásicos. Por otra parte, sus valores son ampliamente variables por causas fisiológicas como embarazo, menstruación, edad y causas patológicas como anemias intensas, por lo que su interpretación debe estar en el contexto de la clínica y el resto de pruebas analíticas. El objetivo de este trabajo fue realizar un estudio comparativo entre VSG elevada con cifra total de leucocitos y PCR, ya que estos dos parámetros se encuentran implicados también en los procesos patológicos anteriormente mencionados. Los valores normales de VSG oscilan entre 10-19 mm/h, los de PCR de 0-10 mg/l y de Leucocitos 4800-10800/mm<sup>3</sup>.

### Material y metodo:

- Sangre periférica extraída en EDTA.
- Analizador hematológico ADVIA<sup>®</sup> 2120i (Siemens).
- Ves-matic Cube 200.
- Suero extraído en tubo seco con gel.
- Cobas c 501.

Se revisaron analíticas del año 2011 y se incluyeron en este estudio 100 muestras cuyo valor de VSG era superior a 19mm/h recogiendo a su vez las cifras de PCR y leucocitos para realizar el estudio comparativo.

### Resultados:

Sobre las 100 muestras estudiadas los resultados obtenidos fueron:

VSG > 19mm/h y PCR > 10mg/l	58 muestras
VSG >19mm/h y Leucocitos > 11000/mm <sup>3</sup>	17 muestras
PCR > 10mg/l y Leucocitos > 11000/mm <sup>3</sup>	11 muestras
VSG >19mm/h, Leucocitos > 11000/mm <sup>3</sup> y PCR > 10mg/l	11 muestras

### Conclusión:

Estos resultados nos llevan a la siguiente conclusión: el 42% de los casos tienen una VSG

elevada con valores de PCR y leucocitos en rangos de normalidad, lo que sugiere que la VSG se ve afectada por otros factores que no influyen en los dos parámetros del estudio y que deberían ser estudiados por mediación de otras determinaciones analíticas como ASLO (antiestreptolisina O), VCM (volumen corpuscular medio), etc.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 116

## ESTUDIO COMPARATIVO DE LEUCOCITOS Y NEUTROFILOS EN RAZA BLANCA Y RAZA NEGRA

*Autor/a/s:* Galisteo Escorza Arancha, Torres Esteso María Angeles, Alvaredo González Raquel, Espartosa Mancebo Elena, Pérez - Pons de la Villa Concepción

*Centro de trabajo:* Hospital Severo Ochoa.

*Provincia:* Leganes-Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* aranchagalisteo@yahoo.es

### Introducción:

El Hospital Severo Ochoa del Área Sanitaria IX de Madrid, atiende una población aproximada de 500000 personas, en las que existe un alto porcentaje de población inmigrante.

Hemos observado un aumento de neutropenias no habituales. Los niveles normales de neutrófilos se clasifican por edad, raza, y otros factores. Se ha demostrado que en la raza negra existe una neutropenia fisiológica. En algunas publicaciones consultadas la diferencia de neutrófilos entre la raza blanca y la raza negra oscila entre 800 y 1000 células/mm<sup>3</sup>. El objetivo de este trabajo fue realizar un estudio comparativo de la fórmula leucocitaria entre la población de raza blanca y la población de raza negra, en el área IX de Madrid.

### Material y metodo:

- Sangre periférica extraída en EDTA

- Analizador hematológico ADVIA<sup>®</sup> 2120i (Siemens).

Los pacientes incluidos en este estudio fueron adultos de raza blanca y de raza negra, con edades comprendidas entre 18 y 62 años. Se revisaron los hemogramas desde el año 2010 hasta mayo 2011, y se recogieron los datos de edad, sexo, raza, diagnóstico, servicio y fórmula leucocitaria.

### Resultados:

El número de pacientes que cumplieron los criterios mencionados para este estudio fue de 100, de los cuales 63 eran mujeres y 37 eran hombres.

- Respecto a la distribución por su patología se ha observado que no hay diferencias significativas en los resultados finales.

- Los valores de referencia utilizados en las publicaciones consultadas (840 neutrófilos/mm<sup>3</sup>) son similares a los obtenidos en nuestro estudio (1.170 neutrófilos/mm<sup>3</sup>)

### Conclusión:

La cifra de neutrófilos en la raza negra es significativamente menor que en la raza blanca. Estos resultados sugieren la necesidad de llevar a cabo estudios más amplios con el fin de obtener el valor de referencia para la población de raza negra que existe en nuestro país. Por otro lado, también sería conveniente revisar los protocolos de diagnóstico de neutropenias en los Laboratorios de Hematología en aquellas áreas sanitarias donde haya un incremento importante de la población de raza negra.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 122

## IMPORTANCIA DE LA DETECCION DE LAS CELULAS DE GRAN TAMAÑO ( LUC )

*Autor/a/s:* FERNANDEZ VALVERDE,MARIA LUISA ; TORRES RODRIGUEZ,FRANCISCA ; LAMELA BERENGENO,MARIA ISABEL

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN MACARENA

*Provincia:* SEVILLA)

*Correo electrónico del primer firmante:* luisaferval@hotmail.com

### Introducción:

Las células LUC, son células de gran tamaño y negativas a la tinción de peroxidasa. Su importancia en el laboratorio de urgencias radica que detectaremos células con déficit de mieloperoxidasa total o parcial.

Se consideran valores elevados de LUC los superiores al 5% y cuando se asocian a citopenias en sangre periférica, constituyen un signo de alarma.

### Objetivo:

Evaluar los significados clínicos de las células de gran tamaño (LUC) en los autoanalizadores de nueva incorporación en un servicio de hematología de urgencias de un hospital provincial del SAS.

### Material y metodo:

Autoanalizadores equipo ADVIA 2120/2120i, Siemens Diagnosticos.

Se procesan 77368 hemogramas correspondientes al periodo comprendido entre el 1 de Junio de 2011 al 31 de Diciembre de 2011, realizándole frotis a todos aquellos que dan un porcentaje de células de gran tamaño (LUC) superior a un 5%

### Resultado:

Se realizan 77368 hemogramas de los cuales con resultado de células mayor a un 5%, obtenemos 2051 ( 2.6% del total)

Dentro de estos 2051 frotis visualizados nos encontramos que:

\* 63.85 % son normales.

\* 30 % Linfocitos activados aislados (correspondiente a pediatría)

\* 4.87 % Linfocitos activados :

- 2.77% Linfocitos activados por viriasis.

- 2.09% Linfocitos activados por mononucleosis infecciosa

\* 0.34 % Linfocitos atípicos provocados por:

- Síndrome proliferativo leucemia linfática crónica

-Distintos linfomas con expresión en sangre periférica

\* 0.09 % Células leucémicas de cualquier leucemia aguda o síndrome mieloproliferativo crónico

\* 0.87 % :

- leucemias linfoblásticas . Todos los blastos que aparecen son peroxidasa negativas.

- Leucemias mieloblásticas agudas. Un alto porcentaje de blastos son peroxidasa negativas.

\* 0.09 % Leucocitos con déficit genético de mieloperoxidasa

### Conclusión:

Han sido eficaces la detección del déficit de mieloperoxidasa, sin embargo hay un gran porcentaje que no se relaciona con ninguna patología hematológica grave.

En los casos de leucemias, linfomas, etc.. éstas células van asociadas a otras alteraciones del hemograma.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 132

## PROTOCOLO DE GENERACION DE PRUEBAS DE COAGULACION SEGÚN DIAGNOSTICO Y RESULTADOS ALTERADOS EN EL LABORATORIO DE ATENCION CONTINUADA.

*Autor/a/s:* Canedo Gómez, Angeles; Sampayo Novoa, Paula; Alvarez Aller, Julia.

*Centro de trabajo:* Complejo Hospitalario Universitario A Coruña

*Provincia:* A Coruña

*Correo electrónico del primer firmante:* Angeles.canedo.gomez@sergas.es

### Introducción:

La principal característica que debe poseer el Laboratorio de Urgencias es la respuesta rápida, por lo que entre otras medidas, debe tener una cartera de servicios limitada a las pruebas analíticas verdaderamente necesarias; por ello, en nuestro laboratorio, creamos un protocolo de trabajo en el área de coagulación para evitar la demora en la obtención de resultados (en beneficio del paciente) lo que también supuso un abaratamiento de los costes.

### Objetivos:

Se definió una metodología de trabajo para la generación de pruebas de coagulación según el diagnóstico del paciente y alteración de resultados con el fin de optimizar los tiempos de respuesta y los recursos disponibles, mejorando la calidad y rendimiento.

### Material y metodos:

Para la realización de los parámetros de coagulación utilizamos:

-Un coagulómetro ACLTOP 500 (Izasa)

-Tubos de citrato sódico a la proporción 1/9, con la sangre a analizar, previamente centrifugados durante 15 minutos a 3500 r.p.m (revoluciones por minuto) y a 4 ° C de temperatura.

-Reactivos del ACLTOP que procedan según cada parámetro a determinar.

En nuestro laboratorio se generan las siguientes pruebas atendiendo al diagnóstico :

1.-Preoperatorios, rutinas, tratamientos con Novoseven, infarto agudo de miocardio, hipertensión arterial en embarazo, metrorragias o embarazo: TP( Tiempo de protrombina) y TPTA( Tiempo de tromboplastina parcial activada)

2.-Postoperatorios y cirugía extracorpórea y hepatopatías : TP, TPTA Y TT( tiempo de trombina)

3.-Shock, sepsis, aborto, feto muerto, eclampsia y pre-eclampsia:

TP, TPTA, TT, Fibrinógeno y Dímeros D.

4.-TEP( tromboembolismo pulmonar)TP, TPTA Y Dímeros D.

5.-Anticoagulaciones:

– Basal de anticoagulación: TP y TPTA

– Control de anticoagulación oral: INR(indice normalizado de ratio)

– Control anticoagulación intravenosa con heparina :RTPTA ( Ratio del tiempo parcial de tromboplastina activada).

6.-Tratamiento con fibrinolíticos:

– Basal: TP,TPTA, TT,Fibrinógeno y Dímeros D.

– Control post-tratamiento : TT, Fibrinógeno y Dímeros D.

7.-Trasplantes hepáticos : TP, TPTA, TT y Fibrinógeno.

Si los resultados obtenidos en las pruebas generadas según diagnóstico están alterados se generan correcciones con plasma normal al 50% y pruebas complementarias:

– TP normal y TPTA alargado: hacer TT ;si TT alargado fin de estudio; si TT normal, hacer corrección del TPTA .

– TP y TPTA alargados : hacer correcciones y TT;si TT normal,fin de estudio;si TT alargada,hacer corrección y fibrinógeno ;si hipofibrinogéemia hacer Dímeros D.

### Resultados:

La puesta en marcha de un protocolo de trabajo en el área de coagulación supuso un incremento importante de la calidad ofrecida .Ya que al trabajar de forma sistemática por diagnósticos, se generan las determinaciones asociadas a cada uno de ellos y a los resultados alterados.

Con este protocolo se evita, por un lado, que el paciente tenga que sufrir nuevas extracciones para la realización de pruebas complementarias de coagulación y, por otro lado, que el personal del laboratorio disponga de unos algoritmos de actuación que abarquen las distintas determinaciones necesarias según diagnóstico y resultados evitando tanto duplicidades, como determinaciones innecesarias.

Todo esto conlleva una reducción del tiempo de respuesta y un mejor aprovechamiento de los recursos materiales, es decir, una mayor eficacia y ahorro.

El conocimiento de los resultados de las pruebas de coagulación de un paciente son muy importantes ya que de ellas depende el tratamiento correcto a seguir por el facultativo.

### Conclusiones:

– Reducción de costes sin perjudicar la atención al paciente.

– Uso racional de los parámetros de coagulación.

– Satisfacción del personal del laboratorio.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 134**

## ESTUDIO SISTEMÁTICO DE LA IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES EN DOS HOSPITALES DEL GRUPO RIBERA-SALUD.

*Autor/a/s:* Vieira de la Silva-Navarro, Alejandro (1); Vicedo-Santos, Sonia (1); Fernández-García, Pedro (1); García-Cancho, Laura (2); García-Martín, Laura (2); Arruga-Manzano, Ana María (2).

*Centro de trabajo:* (1) Hospital del Vinalopó; (2) Hospital de Torrejón.

*Provincia:* (1) Elche; (2) Madrid.

*Correo electrónico del primer firmante:* avieira@vinaloposalud.com

### Introducción:

La investigación de anticuerpos irregulares forma parte del estudio inmuno-hematológico en la transfusión de hemáties. Un resultado positivo va a suponer un obstáculo para esa transfusión.

### Objetivos:

Planteamos estudiar nuestra capacidad en la detección y posterior identificación de anticuerpos irregulares y el tiempo de respuesta para encontrar bolsas compatibles con las técnicas disponibles en estos centros.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se evaluó los estudios inmuno-hematológicos realizados a pacientes susceptibles de una transfusión de concentrados de hemáties desde las aperturas de nuestros hospitales hasta el día 15 de febrero de 2012:

Hospital de Torrejón = 22 de Septiembre del 2011. - Hospital del Vinalopó = 31 de Mayo de 2010.

Durante ese periodo hemos transfundido 6.806 unidades de hemáties, habiéndose realizado 3.669 estudios de anticuerpos irregulares, de los cuales un total de 86 han resultado ser positivos. Analizamos tanto los alo como los auto-anticuerpos identificados.

### Resultados:

Un 3% de los pacientes de nuestros ratios presentan uno o varios anticuerpos (frente al 1-2% de media en la población mundial según diversos estudios publicados en boletines de la SETS). En la siguiente tabla se describen los porcentajes:

		Rh			Kell		Duffy	Kid	MNS			OTROS
D	C	E	c	Cw	K	Kpa	Fya	Jka	M	S		PANAGLUTININAS
20	10	13	4	1	22	1	6	6	6	4		7

En todos los casos encontramos bolsas compatibles con fenotipos negativos en el mismo día.

Solo en una ocasión tuvimos que suspender un quirófano (al presentar el paciente una Anemia Hemolítica AutoInmune) hecho que aprovechamos para hacer un estudio más exhaustivo, enviando la muestra al centro de referencia. Resultando ser un autoanticuerpo con aparente especificidad anti-e.

En los estudios sin conclusión evidente (otros): la positividad en estos casos fue secundaria a la presencia de panaglutininas (autoanticuerpos). En estos casos se transfundieron unidades isogrupo e isofenotipo con el paciente sin incidencias en la transfusión.

### Conclusión:

En un 93% de los casos en los que el estudio de anticuerpos irregulares dio positivo identificamos el anticuerpo, lo que demuestra que el panel de identificación y el empleo de papaína junto con el fenotipado del paciente y de la bolsa es un método suficiente para evidenciar aloanticuerpos implicados, y, además, disponer de bolsas compatibles en el mismo día.

En el 7% restante detectamos positividad en todas las células secundaria a la presencia de un autoanticuerpo. Estos casos también fueron transfundidos en el mismo día en que recibimos la muestra.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 143**

## HEMOFILIA "A" ADQUIRIDA

*Autor/a/s:* Fernández Díaz, Ana M; Vázquez Rguez, M Isabel; Barreal Rguez, O; Hernández S, MC

*Centro de trabajo:* Complejo Hospitalario Universitario de Ourense

*Provincia:* Ourense

*Correo electrónico del primer firmante:* anafe70@yahoo.es

### INTRODUCCIÓN:

La hemofilia A adquirida (HAA) es una coagulopatía poco frecuente. Los anticuerpos autoinmunes contra el Factor VIII (FVIII) se desarrollan de forma espontánea generalmente en sujetos de edad sin déficit congénito de FVIII. Puede ir asociada a neoplasias, enfermedades autoinmunes, toma de fármacos, postparto o ser idiopática.

### CASO CLÍNICO:

Presentamos el caso de una mujer de 64 años, sin patología previa que acude a urgencias por epistaxis y hematoma muscular. En las determinaciones analíticas se observa APTT alargado por lo que se procede a estudio exhaustivo.

### MATERIAL Y METODOS:

La hematimetría se realizó en un contador Coulter® LH780, las de coagulación con tecnología ACL TOP de Izasa, reactivos IL (RecombiPlasTin2G, SinthASil, Fibrinogen-C) y método turbidimétrico, y la de Von Willebrand: Co Ristocetina (V W:CoR) por agregometría con reactivos Helena-Biosciences (Ristocetin Cofactor Assay).

### Resultados:

La analítica de ingreso mostró los siguientes resultados leucocitos: 13,8 x 10<sup>9</sup>/L, Hemoglobina: 6,4 gr/dl, Plaquetas: 620 x 10<sup>9</sup>/L. Parámetros básicos bioquímicos: normales. Actividad de Protrombina: 97%, APTT: 72 seg., Ratio APTT: 2,72, Fibrinógeno Von Clauss: 480 mg/dl, APTT mezcla con plasma normal al 50%:48 seg, Von Willebrand: Ag: 321%, V W:CoR: 146%, A. Lúptico: negativo; FVIII: 6,7%, Inhibidor de FVIII: 32 U Bethesda. El patrón del inhibidor fue tipo II, de cinética no lineal. En los 5 primeros meses de seguimiento el FVIII osciló entre 6,2 y 12% y el inhibidor entre 32 y 3,6 U B. Fue preciso administrar terapéuticamente Factor VIIa recombinante (rFVIIa), que acorta considerablemente la actividad de protrombina. Tras tratamientos sucesivos (corticoides, ciclofosfamida y Rituximab) el inhibidor se negativizó y el FVIII recuperó niveles de normalidad.

### DISCUSIÓN:

El caso que presentamos es el de una paciente con clínica hemorrágica, en la que se sospechó el diagnóstico de HAA por presentar un APTT alargado. La sospecha de HAA fue confirmada con las pruebas adecuadas. Es un cuadro poco frecuente que requiere actuación rápida, por ello es de gran ayuda que el personal de laboratorio lo sospeche

y esté entrenado en la realización de pruebas de screening. El tratamiento de urgencia con rFVIIa, indicado en Hemofilia adquirida, puede resolver la gravedad del sangrado. El estudio de laboratorio debe ir acompañado de un estudio clínico sobre las posibles causas que han generado el cuadro. En nuestra paciente se descartaron razonablemente todas las causas conocidas que se asocian a HAA. Requirió varios tratamientos hasta conseguir, tras 5 meses la negativización del inhibidor. La paciente se encuentra asintomática en la actualidad, sin tratamiento específico y niveles de FVIII normales.

#### CONCLUSIONES:

La HAA es una enfermedad autoinmune poco frecuente. Presentamos un caso idiopático que tardó 5 meses en negativizar el inhibidor.

El modelo de comportamiento de este anticuerpo fue de tipo 2, como es habitual en las hemofilias adquiridas.

Ante un alargamiento de APTT aislado, sobre todo si hay diátesis hemorrágica, debe ponerse en marcha el protocolo de estudio y pensar en la posibilidad de hemofilia adquirida, sobre todo si el paciente no tiene patología hemostática previa.

La rapidez en el diagnóstico mejora el pronóstico y puede evitar retraso en la administración de la terapia adecuada.

La administración de rFVIIa acorta el T de protrombina, lo que puede hacer imposible su lectura en los coagulómetros automáticos.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 174**

#### ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD DE LA HbA2 EN MUESTRAS REFRIGERADAS

*Autor/a/s:* Romero Gutierrez Carmen, Sancho Capellán Lucía, Niubó Portis Antonia, Alcalá HERNICA Cristina, Valls Guallar Teresa, Galvez Carmona Francisca, Pérez Hernández Emilia

*Centro de trabajo:* LABORATORIO CLÍNICO L'HOSPITAL ET

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* dcaanr@hotmail.com

#### INTRODUCCIÓN:

Principio del formulario

La hemoglobina (Hb) tiene cuatro cadenas polipeptídicas iguales dos a dos. En el adulto hay tres formas de hemoglobina: HbA (alfa2beta2) en un 97%, HbA2 (alfa2delta2) en un pequeño porcentaje y trazas de HbF (alfa2gamma2).

Las talasemias se pueden definir como una disminución hereditaria de la síntesis de alguna de las cadenas de la Hb. La talasemia más frecuente en nuestro medio es la beta-talasemia menor o rasgo talasémico, forma heterocigótica con anemia leve o asintomática, en la que hay un aumento compensador de la HbA2 debido a la disminución en la síntesis de cadenas beta. La expresividad clínica es variable dependiendo de la intensidad del déficit de síntesis de cadena beta.

La determinación de la HbA2 es de utilidad para el diagnóstico de beta talasemia y su estabilidad analítica en

muestras refrigeradas entre 2-8°C es habitualmente de 7 días.

#### Objetivos:

1. Optimizar los recursos aplicados para la realización de la HbA2 ampliando el plazo de determinación, de 7 a 14 días, en muestras refrigeradas sin perder la estabilidad de la muestra.

2. Evaluar si hay diferencias significativas en los resultados, de forma que pueda cambiar el diagnóstico, de ser portador beta-talasémico o no.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

El estudio se realizó en marzo del 2011 en 39 muestras refrigeradas de 2-8°C de sangre total anticoagulada con EDTA tripotásico que presentaban, una concentración de hematíes elevada  $> 5 \cdot 10^9 \text{ mm}^3$ , microcitosis  $< 70 \mu\text{m}^3$  y ferritina normal o alta. Se determina la HbA2 a todas las muestras a los 7 días y se repiten las determinaciones a los 14 días mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de intercambio iónico en fase reversa en un analizador HA 8160 de MENARINI® diagnostics.

El estudio estadístico se realizó mediante el procedimiento de regresión lineal de Passing Bablok que establece la concordancia de resultados: obteniendo el intervalo del 95% para el valor de la pendiente y el valor de la ordenada en el origen, si incluye el 1 y el 0 respectivamente, se considera que los resultados son transferibles.

Si la pendiente incluye el 1 no presenta diferencias de tipo proporcional y si la ordenada incluye el cero no presenta diferencias de tipo constante.

#### RESULTADOS:

Recta de regresión:  $y = 0.977x - 0.21$ ;  $n = 39$ . Ordenada en el origen: -0,21, IC95 %: [-0.57 a 0.11].

Pendiente en el origen 0,977, IC95 %: [0,863 a 1,012]. Los resultados a los 7 y 14 días no presentan diferencias de tipo proporcional, pero si de tipo constante. Coeficiente de correlación (r) 0.983.

Resultados HbA2 (%) obtenidos a los 7 y los 14 días respectivamente:

Media aritmética (X) 4.446 y 3.938

Desviación estándar(SD) 0.988 y 0.959

Resultado mínimo a los 7 días 2.4 % y a los 14 días 1.7%

Resultado máximo a los 7 días 5.9% y a los 14 días 5.1%

#### CONCLUSIONES:

Los resultados obtenidos a los catorce días no presentan diferencias significativas con los de los siete días, por lo que es posible ampliar el plazo de determinación sin variación clínica significativa.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 184**

#### ANTICUERPOS IRREGULARES DETECTADOS EN HOSPITAL DE PONIENTE EN EL PERÍODO 1996-2011: DIFERENCIAS ENTRE PRUEBAS DE COMPATIBILIDAD PRETRANSFUSIONAL Y SCREENING EN GESTANTES

*Autor/a/s:* Jiménez Martínez María José; Fresneda Díaz, Carmen Josefa; Alonso Ibarra, Isabel María; Gutiérrez Rueda, Amelia Matilde; Lorente Cruz, Dolores; García Montes, Encarnación.

*Centro de trabajo:* Agencia Pública Empresarial Sanitaria Hospital de Poniente

*Provincia:* Almería

*Correo electrónico del primer firmante:* mariajose.jimenez.martinez@epho.es

#### Introducción

El Escrutinio de Anticuerpos Irregulares (EAI) o Test de Coombs Indirecto consiste en estudiar la presencia en suero o plasma de anticuerpos (Acs.) irregulares provocados por inmunización previa frente a antígenos (Ags.) eritrocitarios como consecuencia de transfusión o embarazo. Su frecuencia en la población general oscila entre 0,3 y 2%. La sensibilización de los hematíes se realiza in vitro: hacemos contactar el suero del paciente con hematíes de fenotipo conocido; una vez realizada la sensibilización (incubación y lavado), se le añade el reactivo antiglobulina humana capaz de unirse a IgG o fracción C3d; si hay unión Ag.-Ac. se detectará por la aglutinación de los hematíes tras centrifugación. La técnica del EAI forma parte de las pruebas de compatibilidad pretransfusionales y en screening de gestantes. Si el escrutinio de Acs. Irregulares resulta positivo, procedemos a su identificación: para ello, se enfrenta el suero del paciente a un panel de hematíes comerciales (generalmente de 11 a 16 células) de fenotipo conocido; el estudio de las positividades obtenidas nos permitirá, en la mayoría de casos, determinar el Ac. problema y conocer su significación clínica en el caso de embarazo, por la posible afectación al feto, o de una posible transfusión.

En la provincia de Almería, los inmigrantes suponen el 21,7% de la población (151,159 de 695,560 habitantes) (INE, 2010), notablemente alto si se compara con el 12,2% nacional (5.708.940 de 46.951.532). El Hospital de Poniente es un hospital de tercer nivel que cuenta con 260 camas y asiste a una población de 252.000 habitantes. En 2011 se transfundieron 2.833 unidades de hematíes y destaca su elevado índice de natalidad (2.635 partos en 2011, media de 7,2 partos/día).

#### Material y Métodos

Se recogen los Acs. irregulares detectados en 15 años, desde 1996 (apertura de nuestro hospital) hasta 2011. Se trata de diferenciar aquellos presentes en perfiles de gestantes de los detectados en las pruebas de compatibilidad pretransfusional.

#### Resultados

En gestantes se han detectado un total de 155 Acs. irregulares, siendo el más frecuente Anti-M (36; 23,2%), seguido de Anti-D (24; 15,5%), Anti-E (16; 10,3%), Anti-Lewis a (16, 10,3%) y Anti-Kell (13; 8,4%). En 65 casos (41,9%) se detectó al menos un Ac. del sistema Rh. Aunque se han hallado mezclas de Acs., en la mayoría de casos, 138 (89%), se encontró un solo Ac. En 54 casos (34,8%) estaban presentes Anti-M o Acs. del sistema Lewis. De los 24 casos de Anti-D, 9 eran inmigrantes (37,5%).

En las pruebas pretransfusionales se han detectado 191 Acs. irregulares, resultando más frecuente Anti D (37; 19,4%), seguido de Anti-E (32; 1,8%), Anti-Kell (24; 12,6%) y Anti-M (18; 9,4%). En 107 casos (56 %) se detectó al menos un Ac. del sistema Rh. En la mayoría de casos, 164 (85,9%) se encontró un solo Ac. Solamente en 27 casos (14,1%) estaban presentes Anti-M o Acs. del sistema Lewis. De los 37 casos de Anti-D, 9 eran inmigrantes (24,3%, similar al porcentaje de inmigrantes en nuestra provincia).

#### Conclusiones

Observamos un predominio de los anticuerpos Anti-M y del sistema Lewis en gestantes en relación con los detectados en las pruebas pretransfusionales, lo que puede deberse a que se pueden comportar como Acs. naturales que no necesitan estimulación antigénica, que se producen durante el embarazo, y que, de hecho, pueden desaparecer después.

El Ac. irregular más frecuente en la gestación es Anti-M, seguido de Anti-D, probablemente por la administración profiláctica de gammaglobulina Anti-D, aunque se ha detectado en alta proporción en inmigrantes quizá por su menor seguimiento del embarazo.

Los Acs. del sistema Rh son los más frecuentes en ambas situaciones, con cerca de la mitad de los casos, si bien en menor proporción en gestantes por la presencia de Anti-M y Anti-Lewis.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 185

## DIAGNÓSTICO DE ALFA-TALASEMIA: UN CASO DE HEMOGLOBINA H ATÍPICO.

*Autor/a/s:* Fresneda Díaz, Carmen Josefa; Maciá Trives, Dolores\*; Mata Rivas, Ana María; Plaza Alcaraz, Juan Jesús; López Cabrera, Rosa María; García Montes, Encarnación.

*Centro de trabajo:* Agencia Pública Empresarial Sanitaria Hospital de Poniente. \*Hospital Clínico San Cecilio, Granada

*Provincia:* Almería

*Correo electrónico del primer firmante:* carmenjosefa.fresneda@ephpo.es

### Introducción.

Las hemoglobinopatías constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades hereditarias autosómicas recesivas producidas por alteraciones de la molécula de hemoglobina; constituyen los trastornos monogénicos más frecuentes, sobre todo en determinadas razas y áreas, debido en parte a su efecto protector frente a la malaria. Existen dos tipos: hemoglobinopatías estructurales, por síntesis de una hemoglobina anómala, y talasemias, por disminución o ausencia en la síntesis de una cadena normal. La hemoglobina (Hb) está formada por cuatro subunidades proteicas (globinas) iguales dos a dos. La Hb humana adulta es una mezcla de tres subtipos: HbA1 (α2β2) (>90%), HbA2 (α2δ2) (<3,5%) y Hb Fetal (F) (α2γ2) (<1%). El gen de la α globina se localiza en el cromosoma 16 y cada persona tiene 2 cromosomas 16 (el genotipo normal es αα/αα). Las α-talasemias se deben a la falta de síntesis de cadenas α, principalmente por delección o pérdida de material genético. La delección más frecuente en España, área mediterránea y población negra, es la que afecta a 3,7 kb de DNA (-α3,7); la delección de 4,2 kb (-α4,2) es más frecuente en el sudeste asiático.

La delección de 3 genes (genotipo --/α) produce la Enfermedad por Hb H. Es frecuente en China e Indonesia pero se han descrito casos aislados en Sudamérica, Italia y España. Es muy variable, pudiendo cursar con anemia intensa (hemólisis e ictericia) o cifra de Hb normal, junto con microcitosis e hipocromía.

Ante una microcitosis e hipocromía, con o sin anemia, el primer paso es descartar ferropenia; si el metabolismo férrico es normal, se determina Hb A2 y Hb F para descartar β-talasemia; si se descarta, se realiza estudio de posible α-talasemia, para lo que se requieren técnicas de biología molecular.

### Caso clínico:

Varón de 41 años, raza negra y natural de Mali. En seguimiento por nuestra Unidad de Medicina Tropical por Lúes y giardiasis. Asintomático. En screening de hemoglobinopatía estructural se detecta una variante anómala por el sistema HPLC Hi-AUTO A1c 8160 (Menarini®). Se envía muestra a centro de Referencia que concluye la presencia de Hb H (38,3%); resto de la electroforesis: Hb A 56,3%, Hb A2 5,4%. Los valores del hemograma obtenido por el autoanalizador ADVIA 2120 (Siemens Diagnostics®) indican Hb 140 g/L, hematocrito 40,5%, VCM 72,4 fL, CHM 25 pg y CHCM 345 g/L; leucocitos y plaquetas normales. El frotis sanguíneo muestra ligera microcitosis e hipocromía. Metabolismo férrico normal. IgE elevada de 417,75 UI/mL, con serología positiva a Schistosoma. Ecografía abdominal sin hallazgos. Se solicita estudio molecular de alfa-talasemia detectándose heterocigosidad con delección 3.7 Kb de 1 solo gen. Se realiza técnica de precipitación de Hb H tras incubación de la muestra 4-24 h con azul cresil brillante al 1%, observándose hematíes con depósitos de Hb ("técnica de pelotas de golf").

Con la sospecha de una posible asociación con otro tipo de alteración molecular de la cadena α o con una alteración de la cadena β dada la cifra de Hb A2, se solicita estudio genético más ampliado a centro genético de Referencia, que realiza determinación de α-tal mediante PCR multiplex, concluyendo, de nuevo y, únicamente, en una sola delección 3.7 Kb. Patrón normal en el estudio molecular de la cadena β.

### DISCUSIÓN:

La delección de 3.7 Kb es un hallazgo frecuente en el área mediterránea y en pacientes procedentes de regiones africanas y suele cursar con microcitosis e hipocromía, con o sin anemia. Sin embargo, la detección de Hb H se considera un hecho muy poco común en pacientes de origen no asiático, y se describe que se debe a la delección de 3 genes α.

Debido a los movimientos migratorios, estamos asistiendo a patología hasta ahora poco frecuente en nuestro medio y propias de zonas endémicas de malaria, como el África Subsahariana y el Magreb.

En el caso que describimos, tras la detección de Hb H, encontrada como hallazgo por una banda anómala en el screening por HPLC, se solicitó estudio molecular de la cadena α por la técnica PCR-multiplex que sólo ha podido demostrar la delección 3.7 de 1 solo gen de la cadena α.

Esta situación, en principio, no justificaría por sí sola la producción de Hb H, lo que orienta a que pudiera otro tipo de alteración genética que, a pesar de los métodos genéticos actuales, no es posible determinar.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 195

## (PROCESAMIENTO DE LAS UNIDADES DE CORDÓN UMBILICAL PARA INFUSIÓN INTRAÓSEA EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA)

*Autor/a/s:* (Eva M<sup>a</sup> Lorenzo Iglesias; M<sup>a</sup> Teresa García Montes; Manuel Herrero Martín; Rebeca Ortega; Olga López Villar; Eva M<sup>a</sup> Villarón Ríos; Natalia López Holgado; Fermín Martín Guijo; M<sup>a</sup> Consuelo del Cañizo)

*Centro de trabajo:* (Hospital Clínico Universitario)

*Provincia:* (Salamanca)

*Correo electrónico del primer firmante:* (evama3@hotmail.com)

### RESUMEN:

Las células madre que se encuentran en la sangre del cordón umbilical (SCU) tienen unas características y propiedades similares a las de médula ósea (MO) que las hacen enormemente valiosas para el tratamiento médico a la hora de combatir algunas enfermedades como algunos tipos de cáncer, anemia u otro tipo de enfermedades por medio del trasplante de progenitores hematopoyéticos. Debido a sus propiedades de inmadurez se reducen los problemas de incompatibilidad y rechazo que surgen en los trasplantes. El mayor inconveniente de la SCU es el escaso número de células progenitoras que posee. Por ello, en el Hospital Universitario de Salamanca se realiza actualmente la infusión intraósea de la SCU, con el objetivo de minimizar este problema.

### OBJETIVO:

El objetivo de este trabajo es describir el procesamiento que se realiza a las unidades de cordón umbilical utilizadas para realizar un trasplante de células progenitoras hematopoyéticas mediante administración por inyección intraósea, en el contexto del protocolo asistencial vigente en el Servicio de Hematología del Hospital Universitario de Salamanca.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se procesaron un total de 9 unidades de SCU provenientes de distintos Bancos de Sangre (4 de Barcelona, 2 de Australia, 2 de EEUU y 1 de Valencia).

Se partió de una unidad de cordón umbilical congelada que fue recibida, dada entrada y almacenada por el personal del Servicio de Transfusión hasta el día del procesamiento del mismo. Tras la descongelación, se introdujo la bolsa en la Unidad de Producción para proceder a la eliminación del dimetilsulfóxido mediante sucesivos lavados con solución de suero fisiológico suplementado con dextrano y albúmina. Finalmente, las células fueron envasadas en jeringas y cerradas herméticamente para su traslado al quirófano y posterior inyección intraósea en cresta iliaca. Se toma muestra para contaje celular postdescongelación y después de los lavados. En todos los pasos del proceso se realizaron los controles rutinarios llevados a cabo en la Sala Blanca.

### RESULTADOS:

El número de células nucleadas totales presentes en la bolsa tras descongelar fue de 15.12x10<sup>8</sup>(8.62x10<sup>8</sup>-20.80x10<sup>8</sup>); tras el procesamiento recogimos un total de 12.84x10<sup>8</sup>(5.60x10<sup>8</sup>-17.08x10<sup>8</sup>) células nucleadas.

Durante el proceso detectamos 5 incidencias, una por rotura de la bolsa en la descongelación (se descubrió la rotura en la descongelación) y las otras 4 por resultados microbiológicos positivos.

### CONCLUSIÓN

El método utilizado en nuestra unidad de producción nos ha permitido en todos los casos la realización del trasplante intraóseo de SCU. En ninguno de ellos las incidencias registradas durante el proceso tuvieron repercusión clínica para el paciente.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 200

## ESTUDIO DE LA COAGULACIÓN POR POSIBLE ALTERACIÓN DURANTE EL PROCESO DE EXTRACCIÓN SANGUÍNEA

*Autor/a/s:* García Palomo, Antonia María y de la Fuente Huerga, María del Carmen

*Centro de trabajo:* Hospital General Universitario de Ciudad Real

*Provincia:* Ciudad Real

*Correo electrónico del primer firmante:* amgpalomo@hotmail.com

### INTRODUCCIÓN:

En la extracción de sangre venosa, el orden de llenado de los tubos debería hacerse siguiendo un método universal, ya que cada tubo tiene un anticoagulante diferente. Esto

puede ocasionar una posible contaminación por arrastre alterando los resultados de algunos parámetros, en concreto los tiempos de coagulación.

#### Objetivo:

Comprobar y evaluar las posibles alteraciones en las pruebas de coagulación, cambiando el orden de llenado de los tubos.

#### Método y Material:

Se realizaron las extracciones venosas a pacientes seleccionados aleatoriamente sin patologías asociadas, siendo el motivo del análisis un estudio preoperatorio. A cada uno de ellos se le extraen dos tubos de coagulación en el siguiente orden: 1º. Primer tubo con citrato sódico al 3.8%; 2º. Tubo sin aditivo; 3º. Tubo con EDTA y 4º. Segundo tubo con citrato sódico al 3.8%.

El número de muestras estudiadas fueron 130, pertenecientes a 65 pacientes.

El coagulómetro utilizado fue el ACL Advance y la técnica la turbidimetría.

#### Resultados:

Los valores que a continuación detallamos son las medias obtenidas del primer tubo de coagulación frente al segundo tubo de cada parámetro:

TP: 12.2 (primer tubo) y 12.1 (segundo)

ACTP: 100.2 (primero) y 101.3 (segundo)

ATTP: 364.5 y 342.3

FIBRINÓGENO: 28.4 y 27.7

#### Conclusión:

Las diferencias obtenidas en los resultados de coagulación respecto de la secuencia venosa son insignificantes, lo cual demuestra que desde el punto de vista clínico no existen alteraciones en los parámetros si se invierte el orden de llenado, puesto que la contaminación que pudieran producir los anticoagulantes por arrastre de un tubo a otro en el sistema de vacío (que es el método de elección en dicha práctica) es prácticamente nulo.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 203**

### ESTUDIO INMUNO HEMATOLOGICO EN LA GESTACION EXPERIENCIA EN NUESTRO CENTRO

*Autor/a/s:* JOSE ANTONIO DELGADO AGUERA, ARACELI CAMPAÑA MARIN, JESSICA BRESCIA NAVARRO, AMANDA RUIZ INCOGNITO

*Centro de trabajo:* HOSPITAL COSTA DEL SOL

*Provincia:* Málaga

*Correo electrónico del primer firmante:* joseada3428@hotmail.com

#### Introducción:

El control inmunohematológico de las mujeres gestantes es obligatorio, y tiene como objetivos detectar precozmente la presencia de aloinmunización, identificar a las mujeres con riesgo de inducir una enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN) e identificar a las mujeres Rh(D) negativo no sensibilizadas que pueden beneficiarse de la administración profiláctica de gammaglobulina anti-D. Dada la importancia de este tipo de estudio consideramos relevante analizar nuestros datos.

#### Material y Métodos:

Se han comparado los resultados de los estudios de test de screening en gestantes durante el 2011 realizados con tarjetas Diamed Lyss coombs siguiendo indicaciones del fabricante, con los del 2002 realizados con técnica convencional de aglutinación en tubo. En 2002 se realizaron 3634 coombs indirectos sobre una población de 226000 habitantes y en 2011 5960 coombs indirectos sobre una población 387000.

#### Resultados:

Durante el año 2002 se detectaron 43 determinaciones positivas (1,2%) y las especificidades detectadas fueron: 13 anti D, 3 anti E, 3 Le b, 2 Le a, 1S, y 1 P-1 y el resto inespecíficas.

Durante el 2011 se detectaron 102 determinaciones positivas (1,71%) y las especificidades detectadas fueron: 80 anti D, 4 anti K 2 anti C, 2 anti c, 3 anti E, 1 anti e, 1 anti S, 2 anti Lea, 3 anti M, 1 anti Fya y 4 inespecíficas.

#### CONCLUSIONES:

Hemos detectado un aumento significativo en el número de screening realizados (64%), en el número de screening positivos(0.51%) y en la especificidad(40%) de los mismos. Pensamos que es debido a los siguientes factores:

- 1) El aumento en el número de screening es debido al aumento poblacional (41%).
- 2) El aumento de screening positivos y el aumento en las especificidades debido a la sensibilidad del método diagnóstico.

Consideramos que la tarjeta Diamed para el estudio de screening inmunohematológico es

un método sencillo y eficaz debido que el porcentaje de screening positivos en nuestros resultados coincide con los estudios publicados en la literatura.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 206**

### DETERMINACIÓN DEL DíMERO-D EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS COMO SOPORTE DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD TROMBOEMBÓLICA VENOSA

*Autor/a/s:* GARCÍA LÓPEZ MARÍA DOLORES, JIMÉNEZ MARTÍN REMEDIOS, GARCÍA LÓPEZ NIEVES, MORAL LASTRE MANUEL, RICO MIGUEL RAQUEL

*Centro de trabajo:* HOSPITAL GENERAL BÁSICO DE LA AXARQUÍA

*Dirección del primer firmante:*

*Provincia:* MÁLAGA

*Correo electrónico del primer firmante:* teclawwwf8@yahoo.es

#### Introducción:

- El dímero-D (DD) es un producto de degradación de la fibrina, cuya presencia indica fibrinólisis de un trombo. Su detección es un indicador de la actividad de la coagulación.

- Sus niveles se elevan en la enfermedad tromboembólica venosa (ETE), aunque también pueden estar incrementados en pacientes con cardiopatías isquémicas, disección aórtica, coagulación intravascular diseminada, infección, neoplasia y cirugía entre otros. Su principal aplicación diagnóstica es la exclusión de eventos tromboembólicos al tener, según numerosos estudios, una sensibilidad (S) y valor predictivo negativo (VPN) elevados.

#### OBJETIVO:

Se estudian las determinaciones de DD realizadas en el laboratorio de urgencias del Hospital General Básico de la Axarquía en un período de 4 meses y su posible asociación con enfermedad tromboembólica.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

- Procesamiento de las muestras: para la determinación del DD se requieren 3 ml. de sangre total en tubo de coagulación con citrato sódico el cual es sometido a centrifugación a 3000 rpm. El plasma obtenido se trabaja por método turbidimétrico que detecta una reacción de agregación tras la adición de un anticuerpo monoclonal a muestras que contienen DD. El equipo de coagulación utilizado es el BCS-XP de Siemens.

- Los valores de referencia del DD en nuestro Laboratorio son 0-0,5 mg/L, considerando que las cifras superiores a 0,5 mg/L podrían ser compatibles con el diagnóstico de ETEV y cifras normales podrían descartar este diagnóstico.

#### Resultados:

- Durante este período (4 meses) se procesaron un total de 205 DD, de los cuales 131 fueron positivos y 74 negativos.

- 129 (62,92%) se solicitaron por sospecha de ETEV, 76 (37,07%) por otros motivos que incluyeron dolor torácico, síncope o infección respiratoria entre otros. De los positivos 80 (61,06%) la ETEV fue confirmada mediante pruebas de imagen en 24 pacientes. En ningún paciente con DD negativo y sospecha de ETEV se confirmó en diagnóstico.

#### DISCUSIÓN:

La determinación urgente del DD es una herramienta válida para colaborar en el diagnóstico de procesos trombóticos. Por su alta sensibilidad y valor predictivo negativo es útil para descartar de manera razonable la ETEV, sobre todo en un contexto clínico de baja probabilidad.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 212**

### INCOMPATIBILIDAD FETO MATERNA

*Autor/a/s:* Monika Aras Ibarzabal, M<sup>a</sup> Teresa Pérez de la Puente, Maite Zurbano Mendivil, Yolanda Gómez Alcibar, Eva Mellado Cano, M<sup>a</sup> Itziar Pujana Zaldegi y J.M. Beltrán de Heredia Oyarzabal

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO BASURTO

*Provincia:* BIZKAIA

*Correo electrónico del primer firmante:* monika@irakari.jazztel.es

## INTRODUCCIÓN:

La enfermedad Hemolítica del recién nacido (E.H.R.N.) o Eritroblastosis Fetal (E.F.), se produce como consecuencia de la destrucción de los hematíes fetales inducida por la acción de los aloanticuerpos IgG específicos de la madre, que atraviesan la placenta y que reaccionan con un antígeno de origen paterno presente sobre los hematíes fetales y ausente en los eritrocitos maternos.

## OBJETIVO:

Conocer la incidencia de la Incompatibilidad feto-materna en el Hospital Universitario Basurto durante el año 2011.

## MATERIALES Y METODOS:

Partimos de muestras de sangre de cordón de neonatos remitidos por el servicio de Ginecología y Obstetricia de Hospital Universitario Basurto. Realizamos el Test de Coombs directo (T.C.D.). Las muestras positivas se siguen estudiando.

En el estudio se pide tubo de suero y tubo con EDTA de la madre y el neonato. Se realizan los siguientes estudios:

### • ESTUDIO INCOMPATIBILIDAD ABO

RECIEN NACIDO.- Grupo sanguíneo y Rh; estudio de aglutininas salinas, estudio de AntiA y AntiB inmunes, estudio de Hemolisinas y escrutinio de aloanticuerpos eritrocitarios.

MADRE.- Grupo sanguíneo y Rh, estudio de aglutininas salinas, estudio de AntiA y AntiB inmunes y escrutinio de Anticuerpos de anticuerpos eritrocitarios.

### • ESTUDIO DE ALOINMUNIZACIONES CAUSADAS POR ANTICUERPOS AntiD Y OTROS (excepto incompatibilidad ABO)

RECIEN NACIDO.-Determinación de grupo ABO y Rh y anticuerpos irregulares. Hemograma y Bioquímica.

MADRE.- Grupo ABO y Rh, determinación e identificación de anticuerpos irregulares y titulación.

## RESULTADOS.

Durante el año 2011 se obtuvieron 1556 muestras de sangre de cordón de neonatos de madres de grupo hemático O y/o RhD negativo, de los cuales 1538 fueron negativos.

De los 18 casos con T.C.D. positivo se determinó lo siguiente: Incompatibilidad ABO 6 casos; 2 casos de incompatibilidad Anti-D, un caso AntiD+AntiC, un caso AntiC+Anti Fya y en 7 casos se descarta que hubiera incompatibilidad feto materna.

## CONCLUSIONES.

El avance más importante para la prevención de la E.H.R.N. fue la obtención de gammaglobulina anti-D a principios de los años 60. Las aloinmunizaciones causadas por otros anticuerpos (diferentes anti Rh-D) no tienen profilaxis, pero son más leves.

Las mejoras introducidas en los cuidados obstétricos y neonatales han reducido la incidencia de la enfermedad fundamentalmente con la introducción de la exanguinotransfusión, el parto prematuro y con la transfusión intrauterina.

Esto ha hecho que no se hable tanto de Enfermedad Hemolítica sino de Incompatibilidad feto-materna.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 214**

### RELACION ENTRE EL PARAMETRO NEUTRO-X (SYSMEX) Y LA HIPOGRANULARIDAD EN LOS SINDROMES MIELODISPLASICOS

*Autor/a/s:* Carmen Guillen, Mercedes Paredes, Estrella Rubio

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Mostoles

*Provincia:* (Madrid)

*Correo electrónico del primer firmante:* (brevas3hotmail.com)

## RESUMEN:

Bajo la denominación Síndromes Mielodisplásicos (o, SMD) se incluyen enfermedades que tienen como característica común el que las células madre de la médula ósea, encargadas de fabricar todas las células de la sangre, tienen un defecto que les hace producir células anómalas incapaces de realizar sus funciones habituales, y en menor cantidad de lo normal. Generalmente son enfermedades que comienzan con un curso clínico indolente y progresivo. Con un VCM normal o aumentado, y una anemia (normocítica o macrocítica) progresiva que se caracteriza por ser refractaria a la mayoría de los tratamientos. Respecto a la serie blanca, nos encontramos con leucopenia, alteraciones en la morfología de los leucocitos (leucocitos hipogranulares o anomalía de pseudopelger),

## Objetivo:

El diagnóstico de SMD está basado en los cambios morfológicos de la sangre y médula ósea.

El objetivo de este trabajo es examinar la correlación del parámetro de investigación NEUT-X que nos proporciona el autoanalizador Sysmex XE-2100 con muestras de pacientes con

SMD en nuestro laboratorio y, una vez examinada esta correlación, evaluar si realmente nos puede servir como ayuda a la hora de diagnosticar SMD ya que dicho parámetro, según diversos estudios, correlaciona bien con el grado de granularidad de los neutrófilos. Concretamente, NEUT-X es valor medio de la dispersión lateral (SSC) de la población de Neutrófilos en el scattergrama DIFF del analizador y según estos estudios cuando está disminuido puede ser indicativo de displasia.(1)

## Materiales y Método:

Se utilizaron 150 muestras de sangre venosa recogidas en tubos de vacío con EDTA como anticoagulante, procedentes 90 donantes como población normal (normogranularidad), y la restantes de pacientes hospitalizados y ambulatorios de nuestro Hospital con diagnósticos de sepsis, infección que, presentaban (hipergranularidad en los neutrófilos) y pacientes con sospecha de SMD, que algunos presentaban hipogranularidad, también se utilizaron controles comerciales (roche) alto, medio y bajo suministrados por el fabricante. Todas las determinaciones fueron realizadas antes de transcurridas cuatro horas desde la extracción, siendo conservadas a temperatura ambiente (18-20 °C) hasta el momento de su estudio. Paralelamente se realizaron extensiones de sangre periférica para cada una de las muestras clínicas que fueron teñidas con colorante y observadas al microscopio. Una vez procesadas las muestra por un Sysmex XE2100 teniendo en cuenta sobre todo el parámetro a estudiar. (Nx), se verificaron en un frotis sanguíneo observando la granularidad de los neutrófilos, estableciéndose los siguientes límites de granularidad en nuestro laboratorio

Parámetro	Normogranularidad Nx.	Hipergranularidad Nx	Hipogranularidad Nx
Nx	1265-1369	1358-1422	1166-1201

## Conclusión:

Una vez establecidos los límites de granularidad, observamos que los Valores inferiores correlacionan bien con hipogranularidad de los neutrófilos observada al microscopio en nuestro laboratorio. Por lo tanto, el empleo del parámetro NEUT-X, junto con otro parámetro como la hemoglobina (anemia), puede ser de ayuda como indicativo de revisión de frotis por sospecha de SMD. El Neutro-x ha evaluado en SMD en pacientes con hipogranularidad visible en el 98% de las muestras procesadas demostrando que este parámetro sería muy útil en el laboratorio, para ayudarnos a detectar estos síndromes

(1)foto, scattergrama

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 215**

### RELACIÓN ENTRE LA RESISTENCIA A LA PROTEÍNA C ACTIVADA Y LA MUTACIÓN DEL FACTOR V LEIDEN

*Autor/a/s:* Quesada García, María Josefa; Miranda Alfaro, Gloria; Amo Checa, María Ángeles; Alonso Ontañón, María José; Andrés Cercadillo, Ana; Hernández Asensio, Pilar.

*Centro de trabajo:* Hospital Santa Bárbara de Soria

*Provincia:* Soria

*Correo electrónico del primer firmante:* mjosequesada58@yahoo.es

## INTRODUCCIÓN:

La proteína C activada (PCa) contribuye a la regulación de la coagulación, inactivando el factor Va, y favoreciendo la formación de trombina. Si una persona presenta resistencia a la proteína C activada (RPCA) sufre un incremento del riesgo de trombosis. En alrededor de un 95% de los individuos la RPCA (prueba coagulativa), la causa radica en una mutación del gen del Factor V Leiden (prueba genética). Si se detecta RPCA, se procede al estudio de la mutación del gen del Factor V Leiden, tanto para confirmar el diagnóstico como para determinar si el paciente es homocigótico o heterocigótico para la misma. La prueba de la RPCA permite realizar un cribado más rápido y económico de la mutación del Factor V con una elevada fiabilidad.

## Objetivos:

El objetivo principal de este trabajo es evaluar la correlación entre la determinación de la RPCA por métodos coagulométricos y la presencia de la mutación del Factor V Leiden por métodos moleculares, así como, la posible influencia en los pacientes con tratamiento de anticoagulación.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

La determinación de la resistencia del factor V Leiden se realiza a partir de una muestra de sangre venosa anticoagulada con EDTA para la identificación mediante biología molecular. El paciente no precisa estar en ayunas. La determinación de la RPCA se lleva a cabo en muestras anticoaguladas con citrato; se mezclará cuidadosamente una parte de citrato sódico con nueve partes de sangre venosa. Centrifugar inmediatamente durante 15 minutos a 2.500 revoluciones por minuto como mínimo. Al extraer el plasma deberá evitarse la contaminación con plaquetas; la técnica se realiza en el Stago y utilizando el reactivo Pefakit® APCR-R Factor V Leiden para uso diagnóstico "in vitro".

## RESULTADOS.

Se han estudiado 114 casos: 57 hombres y 57 mujeres. De ellos 93 casos son negativos y

21 casos positivos para la determinación de la RPCA. Se considera como punto de corte del ratio de la prueba de la RPCA un valor de 1.95 (siendo positivo por debajo de este valor). Se ha estudiado la correlación entre la positividad o negatividad de la RPCA con el criterio mencionado y la prueba por PCR para factor V Leiden.

De los casos positivos para RPCA 12 eran varones y 9 mujeres. En 29 casos (22 hombres y 7 mujeres) el paciente estaba en tratamiento anticoagulante oral en el momento del estudio. La tabla con los resultados obtenidos es la siguiente:

TABLA GENERAL DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS					
Sexo	Resultado	RPCA	Factor V Leiden	Anticoagulado	Detalle de los resultados
Femenino	Negativo	48	48	TAO No	42
				TAO Si	6
	Positivo	9	9	TAO No	8
				TAO Si	1
Masculino	Negativo	45	45	TAO No	27
				TAO Si	18
	Positivo	12	12	TAO No	8
				TAO Si	4

### CONCLUSIONES:

La correlación entre los resultados hallados mediante la RPCA y el Factor V Leiden es total, del 100 %

En pacientes anticoagulados el valor de la técnica de RPCA es similar a en los no anticoagulados

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 220**

### ANÁLISIS DE LA DISPERSIÓN DE LOS VALORES OBTENIDOS EN EL STAGO PARA LA DETERMINACIÓN DE DIMERO-D

*Autor/a/s:* Quesada García, María Josefa; Miranda Alfaro, Gloria; Alonso Ontañón, María José; Amo Checa, María Ángeles; Hernández Asensio, Pilar; Andrés Cercadillo, Ana.

*Centro de trabajo:* Hospital Santa Bárbara de Soria

*Provincia:* Soria

*Correo electrónico del primer firmante:* mjosequesada58@yahoo.es

### INTRODUCCIÓN:

La determinación del Dímero-D es una herramienta cada vez más utilizada para el diagnóstico de trombosis y para la monitorización de terapias trombotica. Ha sido uno de los parámetros de la hemostasia que más interés ha despertado durante la última década. Es la prueba más empleada en el laboratorio de urgencias como screening para descartar la enfermedad tromboembólica venosa, sin embargo, en ningún caso sirve como prueba confirmativa de dicha enfermedad.

El Dímero-D es una molécula de pequeño tamaño (182 kDa) que procede de la degradación de la fibrina estabilizada. Su vida media es de unas 8 horas y su principal vía de eliminación es la renal.

### Objetivos:

Valorar la precisión de la fiabilidad de la determinación del Dímero-D en muestras de pacientes ambulatorios que acuden al Servicio de Urgencias de nuestro hospital por sospecha clínica de trombosis venosa profunda (TVP) o tromboembolismo pulmonar (TEP).

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se han estudiado 218 muestras de pacientes con las características mencionadas anteriormente, entre Noviembre de 2011 y Enero de 2012, en las que se determinaron por duplicado los niveles de Dímero-D (STA-Liatest D-Di, Diagnostica Stago, Asnières sur Seine, Francia) en un coagulómetro STA-R; para ello se han utiliza un tubo de 2,7 ml de sangre con citrato sódico sometido a centrifugación durante 5 min a 3.500 r.p.m. Se compara la desviación de los dos resultados obtenidos de una misma muestra, con el valor medio de ambos, tanto en valor absoluto (desviación típica), como en % (coeficiente de variación), a fin de determinar la fiabilidad del método. El punto de corte para descartar la TVP/TEP fue 0,5 µg/ml.

Para ello se han dividido las muestras en dos grupos: el primero con valores  $\leq 0,5$  µg/ml y el segundo con valores  $> 0,5$  µg/ml; se ha calculado el resultado medio obtenido en cada grupo, la desviación típica de cada resultado y la media de estos en cada grupo, y el coeficiente de variación de cada resultado, y la media de cada grupo.

Se considera que un coeficiente de variación de los valores extremos respecto del valor definitivo inferior al 5 % es una variación pequeña, y el resultado es fiable, un coeficiente de variación entre el 5 – 10 % es una variación significativa, y el resultado pierde fiabilidad, y para coeficientes de variación superiores al 10 % el resultado parece menos fiable.

### RESULTADOS:

El primer grupo (valores de Dímero-D  $\leq 0,5$  µg/ml) está formado por 75 casos; el valor medio resultante es de 0,307 µg/ml, la media de la desviación típica de estos valores es de 0,021 µg/ml, en todos los casos la desviación es inferior a 0,10 µg/ml, si bien, la media del coeficiente de variación (%) de los dos valores de Dímero-D respecto del valor medio es de 7,20 % para este grupo, con 39 casos con CV (%)  $< 5$  %, 36 casos con C.V. (%)  $> 5$  % y de estos 23 casos con C.V. (%)  $> 10$  %, esto es debido a que se compara con el valor medio, siendo éste muy bajo.

El segundo grupo (valores de Dímero-D  $> 0,5$  µg/ml) está formado por 143 casos, el valor medio resultante es de 3,226 µg/ml, la media de la desviación típica de estos valores es de 0,0477 µg/ml, y la media del coeficiente de variación (%) de los dos valores respecto del valor medio es de 2,263 % para este grupo, con 124 casos con CV (%)  $< 5$  %, 19 casos con CV (%)  $> 5$  % y de estos 2 casos con C.V. (%)  $> 10$  %. En este grupo hay 7 valores donde la desviación típica es superior a 0,20 µg/ml, pero en estos casos el valor medio del Dímero-D es superior a 10 µg/ml y no permite, en cualquier caso, descartar la TVP/TEP.

Hay 41 casos (22 el primer grupo y 19 en el segundo) en el que los dos resultados son iguales, es decir la fiabilidad es total.

### CONCLUSIÓN:

Se puede concluir, que para valores de Dímero-D  $< 0,5$  µg/ml, el porcentaje de variación de los resultados es mayor que cuando los valores obtenidos son  $> 0,5$  µg/ml, pero el valor absoluto de la desviación es muy pequeño. Por el contrario cuando el valor medio es alto, el valor de la desviación es porcentualmente menor y en ningún caso induce a error o duda para descartar o no la TVP/TEP. Por ello que se puede concluir que el método para valorar el Dímero D es fiable y las variaciones observadas no resultan clínicamente relevantes tanto en aquellos casos con Dímero-D positivo como negativo.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 226**

### AGREGACIÓN REACTIVA DE PLAQUETAS Y NEUTRÓFILOS EN EDTA SECUNDARIA A TRATAMIENTO CON HEPARINA.

*Autor/a/s:* Adelaida Martín Guerrero, David Antillano Martínez

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Vall d'Hebron

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* auraminna@hotmail.com

### INTRODUCCIÓN:

La evolución de los autoanalizadores en hematimetría, como el autoanalizador Coulter LH 750 (Beckman Coulter, Brea, CA, USA) nos proporcionan gran cantidad de información a través de sus histogramas y scategramas que son de gran ayuda a la hora de verificar que la lectura de los parámetros hematológicos se han realizado correctamente, o bien nos indican la presencia de alguna interferencia que convendría verificar y que de otro modo pasaría inadvertido.

### MATERIAL Y METODOS:

Tubo Vacutainer con EDTA/K3.

Tubo Vacutainer con Citrato sódico.

Frotis Sanguíneo.

Autoanalizador Coulter LH 750.

Cellavisión.

### DATOS CLÍNICOS:

Paciente postoperada que recibe tratamiento con heparina, y tras realizársele analítica programada, en esta destaca una marcada plaquetopenia y neutropenia, que tanto el histograma con el scategrama nos muestran signos de alguna interferencia. Al consultar analíticas previas observamos gran disparidad con los resultados actuales. Se realiza frotis sanguíneo para verificación al microscopio (Cellavisión) donde observamos agregación plaquetar (tipo EDTA - dependencia) y agregación de los neutrófilos (siendo esta la causa de la neutropenia). Por lo que procedemos a procesar la muestra en Citrato sódico obteniendo la normalización de los valores tanto de plaquetas como de neutrófilos.

### RESULTADOS:

Figura 1 Pantalla Couter en EDTA; CBC Histogramas.

Figura 2 Pantalla Couter en EDTA; Diff Scategramas.

Figura 3 Pantalla Couter en Citrato; CBC Histogramas.

Figura 4 Pantalla Couter en Citrato; Diff Scategramas.

Figuras 5 y 6 Imágenes agregados de plaquetas.

Figuras 7, 8, 9 Imágenes agregados neutrófilos.

## CONCLUSIÓN:

La importancia de una correcta interpretación de los histogramas y scategramas por parte del técnico de laboratorio a la hora de detectar y valorar las diferentes interferencias que se producen cotidianamente por diversos motivos sienta las bases para iniciar el protocolo de revisión manual al microscopio (Cellavision).

También cabe destacar la fluidez entre los facultativos y el laboratorio pues resulta vital conocer los detalles que nos han llevado a tal resultado con el objetivo de colaborar para solucionar el problema.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 232**

## IMPLANTACION DE LA AUTOMATIZACIÓN EN EL LABORATORIO DE HEMATOLOGÍA

*Autor/a/s:* María Begoña Gloria Varela Soto, Carmen Mendoza Ruiz, María Aranzazu Diez de Diego Itziar Santos Diez, Francisco Javier Aguayo Gredilla.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO BASURTO

*Provincia:* BIZKAIA

*Correo electrónico del primer firmante:* mbgvarela@gmail.com

## INTRODUCCIÓN:

Desde el recuento celular en cámara, pasando por la diferenciación leucocitaria mediante el estudio de los frotis sanguíneos, y la obtención del recuento de células rojas por centrifugación (porcentaje del hematocrito), la tecnología nos ha ido ofreciendo diferentes posibilidades de automatización en la sección de hematología, apoyo tecnológico sin el cual sería prácticamente imposible atender a la demanda actual.

## Objetivos:

El objetivo de este estudio es describir el nuevo proceso analítico del laboratorio de hematología del Hospital Basurto, enumerando las diferentes fases del mismo y los equipos que intervienen. Adicionalmente se valora comparativamente el nuevo equipamiento respecto al anterior.

## MATERIAL Y METODOS:

Ante el creciente aumento de la demanda analítica y la necesidad de mejora continua, se estudiaron los flujos de demanda y los equipamientos disponibles en el mercado, para poder diseñar modificar el funcionamiento de la sección, acorde a las necesidades de nuestro laboratorio. Se estableció un esquema de flujo de las muestras según lo solicitado en la petición y las posibles alarmas derivadas de los resultados de la hematimetría, elaborando finalmente un proceso de trabajo global y otros específicos de cada equipo. La sección se dotó con 3 contadores hematológicos (2 Sysmex XE-5000 y un XE-2100), un clasificador de muestras (TS-1000), un extensor teñidor (SP-1000i) y un equipo de lectura y clasificación microscópica (Cellavision DM 96) todos ellos de la casa comercial Roche. El Cellavision, además, ofrece un atlas hematológico, permite guardar imágenes y visualizar la fórmula por varias especialistas a la vez. Se consultaron los protocolos anteriores y actuales, haciendo una valoración de la cantidad de fórmulas leucocitarias que se visualizaban antes y después de este cambio.

## RESULTADOS:

Nuestras muestras hematológicas (Tubo lila con EDTA tripotásico) se analizan en los contadores XE, pasando posteriormente al clasificador, que dispone de órdenes de clasificación pre-establecidas a través del programa informático PSM. Si los resultados obtenidos conllevan una revisión del frotis sanguíneo, se separan las muestras que siguen la ruta de extensión-tinción automática, con visualización final a través del Cellavision. Los criterios para extensión en el caso de muestras que no proceden del servicio de hematología son tanto cuantitativos (linfocitosis, neutropenia, monocitosis, eosinofilia, basofilia, granulocitos inmaduros y leucocitosis) como cualitativos (alarmas de blastos, linfocitos atípicos, desviación izquierda y agregados plaquetarios). Además, se tienen en cuenta otros datos tales como la gráfica de distribución leucocitaria, diagnóstico y servicio de procedencia. El número de muestras de rutina es de aproximadamente 1300/día, de las cuales se realizan unas 45 extensiones (3,5%) para el servicio de hematología. Respecto a las muestras de pacientes no hematológicos, se ha pasado de estudiar 3 extensiones/día a 7 extensiones/día con el método actual (mayor sensibilidad).

## CONCLUSIONES:

- 1.- Con la creciente demanda de peticiones, la automatización de los procesos permite garantizar una respuesta rápida y adecuada, disminuyendo la posibilidad de errores humanos
- 2.- El ahorro de tiempo y la estandarización del proceso, permiten una mayor dedicación y estudio para las muestras con sospecha de patología severa.
- 3.- El Cellavision posibilita dar una mejor formación al equipo de laboratorio, tanto a técnicos como a residentes y facultativos

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 242**

## FRACCIÓN DE PLAQUETAS INMADURAS EN PACIENTES SOMETIDOS A TRASPLANTES DE PRECURSORES HEMATOPOYÉTICOS Y EN OTRAS TROMBOPENIAS EVALUADAS CON EL XE-5000 DE SYSMEX .

*Autor/a/s:* PILAR GARCIA GARCIA, ALVARO LLORENTE UJADO, M. CARMEN BARRIOS DELGADO.

*Centro de trabajo:* H.U. PUERTA DE HIERRO MAJADAHONDA

*Provincia:* MADRID

*Correo electrónico del primer firmante:* pilargarciabis@gmail.com

## INTRODUCCION:

Las plaquetas reticuladas circulantes son un indicador de la megacariopoyesis. Pueden cuantificarse en los contadores hematológicos XE-5000 de Sysmex, obteniéndose la fracción inmadura de plaquetas (IPF) expresada como % del total de plaquetas. Igualmente se obtiene la fracción de reticulocitos inmaduros (IRF), que es indicador precoz de la recuperación eritrocitaria. El IPF ayuda a diferenciar las trombopenias periféricas (IPF alto), de las centrales (IPF normal o bajo) y puede ser un indicador precoz de la recuperación de la médula ósea, tras la quimioterapia o el trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH).

Nuestro objetivo es analizar valores normales de IPF e IRF en nuestro laboratorio y la dinámica de la trombopoyesis en varias trombopenias de origen central: Trasplantes de progenitores hematopoyéticos alogénicos, autólogos y de cordón umbilical; quimioterapia convencional en neoplasias hematológicas y en trombopenias de mecanismo periférico.

## MATERIAL Y METODOS:

Entre enero y mayo de 2008 hemos realizado, en un contador hematológico XE-5000, un hemograma casi diario a 33 pacientes, con una edad media de 44 años ingresados en la planta de Hematología. Se han determinado los días para alcanzar un IPF >3,5%, IPF 4%, así el prendimiento plaquetario, granulocítico, eritrocitario y el tiempo medio en llegar a un IPF >10% en los diferentes grupos de pacientes, anteriormente mencionados.

Utilizamos un grupo control a partir de pacientes sanos de la unidad de donantes de sangre de nuestro hospital, a los cuales se les realizó un hemograma en nuestro contador Xysmex 5000.

## RESULTADOS:

El IPF medio normal en 50 donantes ha sido del 0,85%, y el IRF de 1,7%. En trombopenias periféricas el IPF basal medio alcanza 10,8% frente a un 2,5% en trombopenias centrales.

En los pacientes sometidos a trasplantes de progenitores hematopoyéticos (TPH), el tiempo medio de para un IPF >4% ha sido de 16,5 días. Para la recuperación de las plaquetas 18,5 días, para los eritrocitos 18,6 días.

En pacientes con quimioterapia (QTP) el IPF >4% se alcanzó 19,8 días, la recuperación de las plaquetas a los 27,5 días y el IRF >10% a los 22,6 días.

No hay correlación para un IPF >3,5% o un IPF >4% para la recuperación de las series granulocíticas y eritrocitarias.

## CONCLUSIONES:

El IPF es útil para diferenciar las trombopenias centrales y periféricas. Como indicador de la regeneración plaquetaria tanto en pacientes sometidos a trasplante de progenitores hematopoyéticos, como para los pacientes con quimioterapia.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 243**

## NUEVAS TECNICAS CITOMETRIA FLUJO DE LA HEMOGLOBINURIA PAROXISTICA NOCTURNA (HPN)

*Autor/a/s:* PILAR GARCIA GARCIA, JONATHAN CORONADO COLORADO, INES MORENO SANZ, MARTIN A. CABERO BECERRA.

*Centro de trabajo:* H.U. PUERTA DE HIERRO MAJADAHONDA

*Provincia:* MADRID

*Correo electrónico del primer firmante:* pilargarciabis@gmail.com

## Introducción:

La hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) es una hemopatía clonal adquirida rara. Su clínica consiste en hemólisis con anemia (a menudo con hemoglobinuria) y cuadros trombóticos tanto venosos como arteriales. En la mayoría de los casos se asocia a un fracaso medular previo, usualmente una aplasia medular. El diagnóstico de la HPN se ha basado en poner de manifiesto la ausencia de determinadas proteínas unidas al Glicosil fosfatidil inositol en la superficie de granulocitos y hematíes. La cuantificación del CD55 y CD59 en los granulocitos mediante la citometría de flujo (CMF) ha sido el método estándar en los últimos años. Recientemente la introducción del marcaje con FLAER (un derivado de

la aerolisina marcado con Alexa Fluor 488) en granulocitos se ha revelado como la técnica de elección en el diagnóstico de la HPN. En este trabajo presentamos nuestra experiencia con ambas técnicas.

### Material y Métodos

Hemos comparado el marcaje convencional con CD55 y CD59 con el marcaje con FLAER en 21 pacientes [19 con HPN conocida y 2 con disminución de CD55 de los cuales 1 presentó Lupus Eritematoso Sistémico (LES), y 1 con Síndrome mielodisplásico (SMD)] y 10 controles.

La técnica se realizó en granulocitos de sangre periférica anticoagulada con EDTA, se determinó el número de leucocitos con el contador automático (Sysmex® XE-5000TM) para realizar el cálculo de las células necesarias. Luego procedimos a la lisis de hematíes con solución AutoLyse® (cloruro amónico), se lavó con CellWash solution®, en la técnica A se añadió 5 ml de cada uno de los anticuerpos monoclonales correspondientes: CD55-PE/CD45-APC; CD59-PE/CD45-APC, y en la técnica B se marcó con 4 anticuerpos monoclonales: FLAER/CD24-PE/CD15-PerCP/CD45-APC. Luego se volvió a lavar con CellWash solution®, y se realizó la lectura en el Citómetro de Flujo FACScalibur® y finalmente se analizó con el software Cellquest® y con el software Paint-A-GateTM.

### Resultados:

El porcentaje de granulocitos negativos para cada marcador ha sido:

Pacientes / % Granulocitos negativos	CD55	CD59	FLAER*
Controles (10)	< 1 %	< 1 %	< 0.01 %
HPN (19 / media )	44,66 %	39,02 %	42,64 %
LES (1)	12,70 %	2,02 %	0 %
SMD (1)	7,63 %	0,36 %	0 %

Hemos observado que con el FLAER tenemos mayor sensibilidad y podemos distinguir mejor los casos dudosos en los que también existen deficiencias de CD55. Además con este nuevo marcaje existe una mayor separación entre las poblaciones positivas y negativas en los diagramas de CMF.

### Conclusiones:

La técnica del marcaje con Flaer resultó menos compleja y más sensible.

La detección de granulocitos deficientes en el marcaje con FLAER por CMF constituye la técnica de elección en el diagnóstico de la HPN en el momento actual.

### Referencias

78B:211-230 (2010). \*Borowitz MJ et al. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. Cytometry Part B (Clinical Cytometry)78B:211-230(2010).

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 252**

### MODIFICACIÓN DEL PROTOCOLO DE LAVADO DE CONCENTRADOS DE HEMATIES CON EL SISTEMA ACP-215

*Autor/a/s:* Pérez Duarte, Lucía, Canabal Vázquez, Belén, Fernández Aneiros, Miguel, Carrillo Guerra, David, Fuentes Vilanova, Beatriz, Rodríguez Carreira, Fernando, Barco Santos, Teresa, García Nieto, María Soledad, Castro Lareo, Ana

*Centro de trabajo:* Centro de Transfusión de Galicia

*Provincia:* La Coruña

*Correo electrónico del primer firmante:* lucia.perez.duarte@sergas.es

### Introducción:

El lavado de hematíes es un método utilizado para reducir al máximo el plasma de un concentrado de hematíes y por tanto la mayor parte de las proteínas plasmáticas y metabolitos existentes en el mismo. La principal indicación de esta técnica es el tratamiento de pacientes deficitarios de IgA que necesitan una transfusión urgente, el lavado permite reducir al mínimo el contenido de IgA y por tanto las reacciones anafilácticas graves que se pueden producir. Otras indicaciones menos comunes son: hemoglobinuria paroxística nocturna, anemia hemolítica autoinmune, prevención de isoimmunización HLA, anemia con anticuerpos anti proteínas plasmáticas y anemia con anticuerpos antileucocitarios. El ACP-215 (Haemonetics) es un sistema automático de procesamiento de células diseñado tanto para la glicerolización y desglicerolización de hematíes como para el lavado de los mismos. Este procedimiento se realiza en un circuito cerrado, lo que permite alargar la caducidad del producto a 14 días desde desde la realización del proceso.

### Objetivos:

Evaluar la eficacia del lavado reduciendo a 2 los ciclos de lavado, en lugar de los 4 que trae inicialmente preestablecido la máquina con el ACP-215 mediante la determinación de proteínas pre y post lavado, grado de hemólisis y pérdida de hemoglobina.

### Material y Métodos:

Se utilizaron 63 concentrados de hematíes procedentes de donación de sangre total, desleucocitados y con solución aditiva, almacenados a 4°C durante un máximo de 10 días. Se toman muestras inicial y final para determinar hematocrito, hemoglobina y cantidad de proteínas totales. El proceso de lavado se realizó siguiendo el protocolo estándar recomendado para este sistema reduciendo 2 ciclos de lavado. La mayor parte de las solicitudes de lavado presentadas eran para pacientes deficitarios en IgA.

### Resultados:

Los resultados de hemoglobina, proteínas y hemólisis se muestran en la tabla. La recuperación de hemoglobina fue del 93.2% ± 11.7 y la depleción de proteínas totales del 72.07% ± 15.98. La solución de lavado finalmente utilizada es de 920 ml en lugar de 1840 ml que se consumen con los 4 ciclos.

	Inicial	Post lavado.
<b>Hb (gr./unidad)</b>	55,26 ± 7.08	51.22 ± 8.85
<b>Proteínas totales (gr./unidad)</b>	0.72 ± 0.12	0.20 ± 0.13
<b>Hemólisis (%)</b>	/	0.25 ± 0.23

### Conclusión:

El Sistema ACP-215 es un sistema de fácil manejo, robusto, que no presenta apenas incidencias durante el procesamiento y que permite obtener un concentrado de hematíes lavado que cumple con los requisitos de calidad exigidos por el Consejo de Europa (< 0.8% de hemólisis y < 0.5 g de proteínas totales por unidad). La modificación del protocolo evaluada en este trabajo permite disminuir el tiempo de proceso a 22 ± 1.3 minutos, manteniendo la calidad del componente final.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 265**

### ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA DETERMINACIÓN DE HEMOGLOBINA EN LOS ANALIZADORES COULTER LH750 Y ABL800

*Autor/a/s:* Fernández Campomanes María Rosario, Huerta Campomanes Caridad, Valcárcel Piedra Gracia, Freire Corbacho Antonio

*Centro de trabajo:* Hospital Alvarez Builla

*Provincia:* Asturias

*Correo electrónico del primer firmante:* mrosariocampomanes@yahoo.es

### Introducción:

La anemia neonatal es un trastorno hematológico frecuente en el recién nacido por lo que la determinación de la hemoglobina y el hematocrito en sangre de cordón umbilical puede ser de utilidad para su valoración.

Por otra parte la evaluación bioquímica de asfixia o sufrimiento fetal en el recién nacido se puede efectuar mediante la determinación del pH en sangre de cordón.

### Objetivo:

Estudio y comparación de los valores de hemoglobina sanguínea obtenidos en el analizador Coulter LH750, donde se realiza habitualmente esta determinación, y en el analizador de pH y gases sanguíneos ABL800, con el fin de evaluar la transferibilidad de los resultados entre ambos equipos.

### Material y Métodos:

Durante un año se evaluaron los valores de hemoglobina de muestras de sangre de 2991 pacientes cuyas peticiones contenían solicitud de hemograma y gasometría sanguínea. En la extracción se emplearon jeringas WestMed con heparina de litio/zinc y tubos Vacuette con K3EDTA para la obtención de las muestras para gasometría y hemograma respectivamente. De las 2991 gasometrías realizadas, 2615 fueron arteriales y 376 venosas. Se analizaron separadamente ambas distribuciones de datos.

Para el tratamiento estadístico se hizo uso del programa Medcalc 7.3.0.1 y de los paquetes estadísticos SPSS 15.0 y Statgraphics Centurion XV 5.2.

Se empleó el test de normalidad de sesgo y curtosis en ambas poblaciones. Se compararon los resultados de hemoglobina obtenidos en ambos equipos, en los dos tipos de sangre, arterial y venosa, mediante el test de Wilcoxon con rango de signos y el test t-Student, respectivamente.

Se realizó test de regresión lineal no paramétrico de Passing-Bablok y se comprobó el valor predictivo de las ecuaciones de regresión.

**Resultados:**

Los resultados de hemoglobina obtenidos en ambos equipos no presentan diferencias estadística ni clínicamente significativas al comparar los resultados en ninguno de los dos tipos de muestra, arterial o venosa.

Las rectas de regresión obtenidas de la comparación de los dos equipos fueron las siguientes:

$$\text{Sangre arterial: Hemoglobina}_{\text{Coulter LH750}} = 0,9 * \text{Hemoglobina}_{\text{ABL800}} + 1,45$$

$$\text{Sangre venosa: Hemoglobina}_{\text{Coulter LH750}} = 0,875 * \text{Hemoglobina}_{\text{ABL800}} + 1,488$$

En ambos casos el valor predictivo de las ecuaciones cumplió las especificaciones de calidad deseables según el criterio del colegio de patólogos americanos (1977).

**Conclusiones:**

Existe una buena correlación entre los resultados de hemoglobina obtenidos en el Coulter LH750 y en el ABL800, tanto si la muestra para gasometría procede de sangre arterial como venosa. Esto permite la utilización de una única muestra de sangre de cordón para la determinación tanto de pH como de hemoglobina en el mismo equipo (ABL800), permitiendo así obtener un menor tiempo de respuesta.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 275

### OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO DE OBTENCIÓN DE LAS CÉLULAS STEM MESENQUIMALES (CSM) EN LA UNIDAD DE PRODUCCIÓN DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA

*Autor/a/s:* M<sup>a</sup> Teresa García Montes; Eva M<sup>a</sup> Lorenzo Iglesias; Manuel Herrero Martín; Rebeca Ortega; Eva M<sup>a</sup> Villarón Ríos; Olga López Villar; Natalia López Holgado; Sandra Mutián; Fermín Martín Guijo; M<sup>a</sup> Consuelo del Cañizo

*Centro de trabajo:* Hospital Clínico Universitario

*Provincia:* Salamanca

*Correo electrónico del primer firmante:* mtgm23@hotmail.com

**RESUMEN:**

Actualmente existe un gran incremento de la demanda de CSM para uso clínico en distintas indicaciones, pero siempre debe realizarse en condiciones GMP. Las condiciones de expansión son cruciales tanto para obtener la dosis de CSM adecuada como para asegurar las condiciones de calidad que deben cumplir las mismas.

**Objetivo:**

Analizar las expansiones de CSM para su uso en el contexto de los Ensayos Clínicos (EC) que se están llevando a cabo en la Unidad de Producción del Hospital Universitario de Salamanca.

**Material y métodos:**

En nuestra Unidad de Producción se han procesado un total de 20 MO (17 alogénicas y 3 autólogas) con las siguientes condiciones de cultivo:

- En 10 casos el EC incluía cultivo con suero autólogo (10%) junto con el factor bFGF (1ng/ml).
- En 5 casos se suplementó el medio con lisado plaquetario (5%) + bFGF (1ng/ml).
- En 9 MO se suplementó el medio de cultivo con lisado plaquetario (5%).

El suero autólogo se obtuvo a partir de plasmaféresis neutralizando la heparina utilizada en el proceso con sulfato de protamina.

Las células fueron expandidas según procedimientos estándar hasta obtener un número adecuado según necesidad celular atendiendo al EC. El número de pases necesarios para ello fue entre 2 y 4.

**Resultados:**

De las 10 plasmaféresis realizadas, únicamente en 6 casos se pudo obtener suero libre de fibrinógeno y apto para cultivo. De estas 6 MO solo dos pudieron ser expandidas de forma completa con el empleo único de suero autólogo. Las 4 restantes tuvieron un crecimiento subóptimo claramente visible en los primeros cambios de medio por lo que se precisó añadir lisado plaquetario antes de llegar al primer pase. De los 14 casos en los cuales se utilizó lisado plaquetario, la expansión fue similar con o sin bFGF, obteniendo siempre un número correcto de células (entre 0,7-1x10<sup>6</sup>/kg o 0,5-1,5x10<sup>6</sup>/kg dependiendo del EC) y en un número de días adecuado (18-32).

En todos los casos, las CSM expandidas pasaron los controles de calidad establecidos en la Unidad de Producción (microbiología, inmunofenotipo, estudio citogenético y potencial de diferenciación).

**Conclusión:**

La utilización de lisado plaquetario al 5% permite obtener en todos los casos una expansión adecuada de CSM, disminuyendo gastos (bFGF) y molestias al donante (necesidad de plasmaféresis).

### HEMAGLOBINURIA PAROXISTICA NOCTURNA (HPN): DIAGNOSTICO POR CITOMETRIA DE FLUJO.

*Autor/a/s:* Loreto García Lagarejos, Belen Rodriguez Mena, Paloma Isusi Gorbea, Fernando Marco de Lucas, Rosa Sevilla Zarandona, Jose M<sup>a</sup> Beltran de Heredia Oyarzabal.

*Centro de trabajo:* Hospital Basurto-Osakidetza. Servicio:

*Provincia:* BIZKAIA

*Correo electrónico del primer firmante:* loreto.garcialagarejos@osakidetza.net

**Introducción:**

La HPN es una enfermedad clonal adquirida que afecta a la célula hematopoyética pluripotencial. El amplio espectro clínico y curso variable de la enfermedad son un reto para el clínico en términos de diagnóstico y manejo. La presentación clínica clásica de la enfermedad es la anemia hemolítica intravascular acompañada de hemoglobinuria durante la noche. Además de la hemólisis, el diagnóstico de esta entidad patológica puede presentarse como aplasia medular, trombosis e inclusive confundirse con síndrome mielodisplásico.

La enfermedad se caracteriza por la deficiencia total o parcial de las proteínas de membrana ancladas a la superficie celular a través de la molécula glucosil fosfatidil inositol (GPI) en células HPN. Este defecto fenotípico se debe a la mutación del gen PIG-A, que se localiza en el brazo corto del cromosoma X.

EL diagnóstico se basa en la demostración de que dos poblaciones de células sanguíneas son deficientes en al menos dos moléculas dependientes del GPI.

**Objetivo:**

Estudio y confirmación mediante citometría de flujo de la sospecha de HPN en un caso de un paciente varón de 22 años sin antecedentes médicos de interés.

**Material y métodos:**

Se ha evaluado la muestra (sangre con EDTA) en el servicio de Hematología, sección de citometría del Hospital Universitario Basurto en el año 2011.

Técnica utilizada; la detección por citometría de flujo de la expresión deficiente de moléculas ancladas al GPI en la superficie celular mediante anticuerpos monoclonales (AcMo).

- Reactivos de selección de poblaciones (Beckman-Coulter).
  - CD45-ECD, CD15-PC5 (Granulocitos), CD64- PC5 (Monocitos), CD235a -FITC (Hematies).
  - Reactivo que se une a GPI.
    - FLAER-Alexa 488 (TEBU-BIO)

Reactivos frete a moléculas unidas por GPI (Beckman-Coulter).

CD14-PC7, CD16-PC7, CD24-PE, CD55-PE, CD66b-FITC, CD59-PE

Técnica: Lisar - Lavar - Marcar.

Lectura: Citometro de Flujo FC500 (Beckman-Coulter).

Análisis: KALUZA (Beckman-Coulter).

**Resultados:**

HEMATIES..... CD59

Se detectan Hematies Tipol.....75%

Hematies Tipoll..... 5%

Hematies Tipolll.....20%

MONOCITOS.....CD14, CD55 y FLAER

Se detectan Monocitos Tipol.....20%

Monocitos Tipoll..... 20%

Monocitos Tipolll.....60%

GRANULOCITOS..... CD16, CD24, CD55, CD59, CD66b y FLAER

Se detectan Granulocitos Tipol.....15%

Granulocitos Tipoll+III.....85%

La citología Tipol presenta expresión total de los marcadores.

Tipoll presenta deficiencia parcial

Tipo III presenta deficiencia completa

**CONCLUSIONES:**

Se ha determinado el tamaño del clon en este paciente:

- \* Hematies:25% \* Monocitos: 80% \* Granulocitos:80%

Al ser una técnica cuantitativa nos permite controlar la evolución y/o eficacia del tratamiento.

La medida del clon de monocitos y granulocitos es independiente de la trasfusión y la hemólisis.

Un diagnóstico temprano es la base del tratamiento y control eficaz de la HPN.

La citometría de flujo es el método de elección para el diagnóstico de la HPN.

## OPTIMIZACIÓN DE LA PREPARACIÓN DE POOL DE PLAQUETAS INACTIVADOS. FACTORES QUE INFLUYEN EN EL RENDIMIENTO

Autor/a/s: MARIA ANGUSTIAS MOYA SAN PEDRO; MERCEDES GÓMEZ MARTÍNEZ; OLGA FERNANDEZ ALBERT

Centro de trabajo: CENTRO DE HEMOTERAPIA Y HEMODONACIÓN DE CASTILLA Y LEÓN

Provincia: VALLADOLID

Correo electrónico del primer firmante: amoyas@saludcastillayleon.es

### Introducción:

La implantación de métodos de inactivación de patógenos en los pool de plaquetas (INTERCEPT®) incrementa la seguridad transfusional pero conlleva una reducción de un 10-15% del rendimiento final de plaquetas.

Con el fin de mejorar este rendimiento final, se han revisado todos los procesos de preparación de los pool, optimizando la centrifugación, la separación y el almacenamiento de los B-C con el fin de que el paciente reciba el producto de la mejor calidad posible.

Existe un parámetro que no es posible modificar que es la cifra de plaquetas que presenta el donante, por lo que hemos tratado de establecer una relación entre esta y el resultado del control de calidad de los pool e implantar medidas de mejora.

### Objetivos:

El estudio tiene como finalidad establecer una relación directa entre el nº de plaquetas de un donante y, a partir del análisis y observación de esos datos, relacionarlos con los resultados de los buffy-coat y pool.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

1. De cada bolsa de sangre total (un donante) obtenemos tres hemoderivados: a) Concentrado de hematíes, b) Plasma Fresco y c) Buffy-coat: Este último es la capa leucoplaquetaria. En ella se encuentran el mayor número de plaquetas. Uniendo 5 buffy-coat formamos un Pool de plaquetas en solución conservadora (PASS) para garantizar la viabilidad de estas. Una vez finalizado el Pool se procede a su inactivación con amotosaleno y después de pasadas ocho horas de la inactivación se retira el CAT (que es el resto de amotosaleno).

2. En segundo lugar se analizaron el nº de plaquetas de 240 buffy-coat relacionándolo con el nº de plaquetas del donante. Para esto utilizamos un analizador hematológico Sysmex XT 2000i

3. Por último analizamos 25 Pool de plaquetas obteniendo el resultado del rendimiento final de la bolsa a transfundir (una vez inactivada).

### Resultados:

1. El rendimiento final de los pool está directamente relacionado con el nº de plaquetas de los buffy-coat que lo forman.

De los 25 pool analizados, 6 tenían un rendimiento inferior a  $2.7 \times 10^{10}$  con una media de plaquetas de cada buffy-coat de 213000/ $\mu$ L. Once de los pool tenían un rendimiento superior a  $3 \times 10^{11}$  y la media de plaquetas de cada uno de sus buffy-coat es de 279000/ $\mu$ L.

2. Los pool que tienen un rendimiento inferior a  $2.7 \times 10^{11}$  contienen uno o más buffy-coat de donante con menos de 180000/ $\mu$ L

3. El 15% de nuestros donantes tiene plaquetas inferiores a 180000/ $\mu$ L.

### Conclusión:

El proceso de estandarización de los pool de plaquetas es muy laborioso y delicado, pero el control estricto de los procesos de preparación no es suficiente, ya que existe una relación directa entre el nº de plaquetas resultante en el buffy-coat y el inicialmente aportado por el donante.

La cifra de plaquetas del donante inferior a 180.000 es un factor determinante

El estudio demuestra que no incluyendo a los donantes con plaquetas inferiores a 180000/ $\mu$ L (en dos donaciones) en los pool, aumentaríamos los de bajo rendimiento en 330000/ $\mu$ L (el valor de un donante más).

Se puede mejorar el rendimiento de los Pool de plaquetas sin aumentar el nº de buffy-coat que lo forman y sin variar nuestro sistema de producción de estos.

## ESTUDIO DE INCIDENCIA DE ANTICUERPOS IRREGULARES POSITIVOS EN NUESTRA ÁREA SANITARIA

Autor/a/s: Rodríguez Camacho, María Luisa. Ruíz Ferri, Amparo. Domínguez Lomeña; María José. Ruíz Ortega, Elena. Chaparro Medina, Inés. García Tirado, Ernesto.

Centro de trabajo: Hospital Comarcal de Melilla

Provincia: Melilla

Correo electrónico del primer firmante: luisazuheros@hotmail.com

### Introducción:

La enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN) se produce por acción de anticuerpos de tipo IgG presentes en el suero de la madre dirigidos contra antígenos eritrocitarios que el recién nacido ha heredado del padre y ausentes de la madre. Estos anticuerpos atraviesan la placenta, sensibilizan los hematíes fetales y producen destrucción de los hematíes (hemólisis). Las pruebas de compatibilidad transfusional se llevan a cabo para detectar posibles anticuerpos en el receptor contra antígenos presentes en el donante, con el fin de evitar reacciones transfusionales hemolíticas (RTH).

El estudio de anticuerpos irregulares y su identificación en caso de screening positivo, se llevan a cabo en la práctica rutinaria para identificar aloanticuerpos con capacidad para provocar EHRN y RTH.

### Objetivos:

Conocer las situaciones con estudio de anticuerpos irregulares positivos en nuestro medio, así como las especificidades de dichos anticuerpos.

### Material y Métodos:

Se realiza un análisis retrospectivo de los pacientes con estudio de anticuerpos irregulares con resultado positivo en el periodo de Enero de 2008 a Diciembre de 2011.

### Resultados:

- Estudio de anticuerpos irregulares: Se realizan 148 EAI con resultado positivo a un total de 119 pacientes. Del total de estudios, 103 corresponden a pacientes gestantes (66,6%), 34 a estudios pretransfusionales (23%) y 11 estudios (10,4%) a solicitudes por otras circunstancias clínicas (fundamentalmente estudio reumatológico). 2 estudios incluidos en el apartado de gestación son a recién nacidos de madre con anticuerpo inmune.

- Identificación de anticuerpos irregulares: La distribución de anticuerpos según el tipo de pacientes se representa en la siguiente tabla.

ESPECIFICIDAD	TOTAL PACIENTES	GESTACION	TRANSFUSION	OTROS
Anti-c	4	4	0	0
Anti-C	1	0	1	0
Anti-Cromer null	1	1	0	0
Anti-D	57	52	5	1
Anti-D + C	1	1	0	0
Anti-E	8	2	5	1
Anti-Jka	2	1	1	0
Anti-Jkb	1	1	0	0
Anti-Kell	4	0	3	1
Anti-Kell + Jka	1	0	1	0
Anti-Kpb	1	0	1	0
Anti-Lea	3	2	1	0
Anti-Leb	1	0	1	0
Anti-M	2	1	1	0
Anti-S	1	1	0	0
No especificidad	24	10	10	4
Panaglutinina (Coombs directo positivo)	6	2	0	4
TOTAL	119	78	30	11

La especificidad que se detecta más frecuentemente es el anti-D (47,9% de los pacientes), correspondiendo en un 91,2% a estudios en gestantes. No se detecta especificidad en 24 pacientes (20% del total) con igual frecuencia en los grupos de gestación y transfusión.

-Titulación del anticuerpo irregular: En 4 de las 52 gestantes con anti-D (7,7%), se observó un título  $>1/128$ , y por lo tanto, con más probabilidad de afectación fetal. Una de las pacientes correspondía a un embarazo a término no controlado en nuestra ciudad. El resto corresponde a gestación Rh(D) negativas a las que se le había administrado la inmunoglobulina anti Rh(D) en las semanas previas.

El resto de anticuerpos con título alto corresponden a 4 gestantes (5,1%) con especificidad anti-c, anti-Cromer, anti-D + C, antiJka y 1 gestante (1,3%) sin especificidad conocida.

### CONCLUSIONES:

- El mayor número de estudios de anticuerpos irregulares con resultado positivo corresponden a gestantes.

- La especificidad anti-Rh (D) es la predominante, correspondiendo en su mayoría a gestantes Rh (D) negativa con antecedente de administración profiláctica de IgG anti-Rh (D).

- El screening gestacional se demuestra fundamental para la identificación y seguimiento de anticuerpos con potencialidad para desarrollar EHRN.

### CARACTERÍSTICAS DE LAS ANEMIAS MIXTAS POR DEFICIT DE VITAMINA B12 Y FERROPENICAS

*Autor/a/s:* LUGO GONZALEZ MERCEDES, GONZALEZ RODRIGUEZ MARIA ESTEFANIA, AFONSO HERNANDEZ MARIA DEL MAR, BOLAÑOS MONROY BEGOÑA, GONZALEZ SANTANA TERESA, DIAZ VEGA MARIA JESUS, HERNANDEZ SOSA SANDRA DEL CARMEN.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL DE G.C DOCTOR NEGRIN Localidad:

*Provincia:* LAS PALMAS

*Correo electrónico del primer firmante:* mlugon64@yahoo.es

#### Objetivos:

Analizar las características y forma de presentación de las anemias mixtas, por déficit de vitamina B12 y ferropenia.

#### MATERIAL Y MÉTODO:

De una base de datos de hematología de pacientes estudiados por anemia se incluyeron aquellos que presentaron en la analítica niveles de vitamina B12 inferiores a 200 pg/ml y de ferritina inferiores a 50 ng/ml (80 pacientes). Se recogieron las características demográficas, manifestaciones clínicas, resultados de estudios endoscópicos realizados y datos analíticos incluyendo valores del hemograma, ferritina, sideremia, IST, ácido fólico, vitamina B12, LDH y bilirrubina. Para evaluar la relación entre variables categóricas se utilizó el test de Chi-cuadrado y para la relación con variables continuas el test T-Student o U de Mann-Whitney.

#### RESULTADOS:

La edad media de los 80 pacientes estudiados fue de 68,2 años (DE 16,4; rango: 27 a 95), 58 mujeres (72,5%) y 22 varones (27,5%). Las comorbilidades más frecuentes fueron HTA: 28 pacientes (35%), diabetes mellitus y dislipemia en 31 (39,8%), cardiopatía en 25 (33,8%), accidente cerebrovascular en 14 (17,5%), cirugía gástrica o ileal en 14 (17,5%). Estaban recibiendo tratamiento antiagregante 33 pacientes (41,3%), tratamiento anticoagulante oral 17 (21,3%), 11 de los cuales de forma concomitante con el tratamiento antiplaquetario, inhibidores de la bomba de protones (IBP) 40 (50%) y metformina 17 (21,3%). El valor medio de hemoglobina fue de 9,9 g/dl (DE: 2,2).

El 85% de los pacientes (68) presentaron anemia según los criterios de la OMS, un 31,3% (25) trombopenia, y un 11% (9) leucopenia. El valor medio de VCM fue de 86 (DE 12) oscilando entre 56 y 116. La mayoría de los pacientes, 47 (58,8%) presentaron un VCM normal. Un 28,8% (23 pacientes) presentaron microcitosis y un 12,5% (10) macrocitosis. En 15 pacientes (18,8%) se detectó atrofia gástrica, en 14 (17,5%) pólipos colónicos, en 3 (3,8%) un cáncer gástrico y en 2 (2,5%) un cáncer colónico. Los pacientes con anemia presentaron una edad media significativamente superior (71 años, vs 55 años;  $p=0,001$ ), tenían con más frecuencia cardiopatía ( $p=0,043$ ) y tendían a consumir con mayor frecuencia, casi significativa, fármacos antiplaquetarios (93,9 vs 78,7%;  $p=0,06$ ). El recuento de reticulocitos corregidos fue más alto (1,2 vs 0,7;  $p=0,027$ ) y los valores de ADE estaban más elevados aunque sin alcanzar la significación estadística (17,2 vs 14,6;  $p=0,09$ ).

#### DISCUSIÓN:

En pacientes con anemia perniciosa puede producirse déficit de absorción de hierro. De hecho la infección por *H. pylori* se ha descrito como causa de gastritis con déficit de vitamina B12 y también como causa de ferropenia. Pero además en pacientes con anemia ferropénica por pérdidas digestivas puede coexistir déficit de vitamina B12. En estas anemias mixtas la macrocitosis es muy poco frecuente, enmascarando el clásico hallazgo del déficit de vitamina B12. Además es frecuente la pluripatología y el consumo de fármacos que pueden asociarse a pérdidas sanguíneas digestivas y a alteraciones de vitamina B12. Aunque en pacientes con anemia perniciosa la ferropenia puede deberse a malabsorción, se debe excluir una causa de sangrado. De hecho en esta serie destaca la presencia de neoplasia maligna en 5 pacientes.

#### CONCLUSIONES:

El déficit combinado de vitamina B12 y hierro se asocia con más frecuencia a VCM normal o microcitosis, siendo la macrocitosis el hallazgo menos frecuente. Aunque la ferropenia en el contexto de anemia perniciosa puede deberse a malabsorción, debe investigarse una potencial fuente de sangrado digestivo

### EFFECTO PROZONA CON INHIBICION DE LAS PRUEBAS COAGULOMÉTRICAS EN EL ANTICUERPO TIPO LUPUS.

*Autor/a/s:* Martín Rodríguez, Lidia; García Mateos, Estefanía; Marrero Quintana, María Teresa; Tassies Penella, Dolores; Monteagudo Terrés, Joan.

*Centro de trabajo:* Hospital Clínic i Provincial de Barcelona. Servicio de Hemoterapia y Hemostasia. Laboratorio de Hemostasia Especial

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* lidia5410@hotmail.com

#### Introducción:

El síndrome antifosfolípido (SAF) se caracteriza por la asociación clínica de anticuerpos antifosfolípido (AAF) con un síndrome de hipercoagulabilidad cuya manifestación clínica es trombosis arterial y/o venosa y abortos espontáneos recurrentes. Los AAF son una familia heterogénea de autoanticuerpos que reconocen varias combinaciones de fosfolípidos (FL) y/o proteínas unidas a fosfolípidos. De todos ellos, los actualmente relevantes son los anticuerpos anticardiolipina (AAC), el anticoagulante lúpico (AL) y los anticuerpos anti- $\beta 2$ -glicoproteína I (anti- $\beta 2$ GPI).

Los ALs, especialmente isotipos IgG e IgM, inhiben in vitro las reacciones de la coagulación FL-dependientes susceptibles de un significativo número de artefactos (falsos positivos y falsos negativos). Uno de ellos, el efecto prozona, menos frecuente que otros (preactivación de la muestra, inadecuación del anticoagulante de la misma, etc.), se define como la ausencia de reacción inmune frente a altas concentraciones de anticuerpo.

#### Objetivo:

Evidenciar la presencia de AL en muestras de pacientes en los que excesos de anticuerpo han enmascarado su determinación en la rutina del laboratorio y, en consecuencia, evitar diagnósticos erróneos debidos a un resultado falso negativo, así como subrayar su relevancia en enfermedades que cursan con paraproteinemia.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Paciente: Mujer de 74 años, diagnosticada en Enero de 2006 de un Síndrome Linfoproliferativo B, asociado a la presencia de un componente monoclonal IgM Lambda. Presencia de anticuerpos antifosfolípidos. Ausencia de antecedentes clínicos trombóticos y hemorrágicos.

Pruebas coagulométricas: Tiempo de protrombina (TP), Tiempo de Trombina (TT) y Tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT). APTT diluido, y tiempo del veneno de la víbora de Russell diluido (DRVVT), este último en paciente, y tras incubación con plasma normal e incubación con exceso de FL. Determinación de los factores de la coagulación.

Detección de AAC y anti  $\beta 2$ -GPI por técnicas de enzoinmunoanálisis (ELISA). Identificación del isotipo y cuantificación del título. Test de inhibición de IgM mediante incubación con inmunobeads.

#### Resultados:

	APTT	IQ (%)	TT	APTT <sub>in</sub>	DRVVT	DRVVT <sub>in</sub>	DRVVT <sub>in</sub>	FII	FIX	FV	FVII	FX	FXI	FXII
P	38,4	52,8	21,4	43,2	38,2	94,2	35,4	85,7	44,0	97,9	137,5	110,4	45,2	48,8

	DRVVT	DRVVT <sub>in</sub>
Mix 1/2 P + PP	82,6	46,5
P + Dilución 1/2	49,1	57,1
P + Dilución 1/4	89,9	>120

	FII	FIX	FV	FVII	FX	FXI	FXII
Mix 1/2 P + PP	95,2	88,6	89,2	117,5	104,4	80,4	77,8

	AAC	A- $\beta 2$ -GPI
IgM	180 MPL	60,7 AU/mL
IgG	Negativo	Negativo

La paciente presentó un resultado inicial falsamente negativo en el despistaje coagulométrico, que fue revertido mediante diluciones del plasma fuente de la IgM, mostrando una elevada positividad a diluciones mayores a 1:4 (v/v).

#### CONCLUSIONES:

Una muy elevada concentración de anticuerpos puede eventualmente impedir una adecuada reacción antígeno-anticuerpo, fenómeno conocido como 'efecto prozona'. Si bien este efecto ha sido observado en ocasiones en los inmunoensayos fundamentados en fase sólida, la evidencia del mismo es excepcional en el despistaje coagulométrico del AL. Dichas concentraciones anormalmente elevadas de anticuerpos son especialmente frecuentes en las gammopatías monoclonales, y paraproteinemias en general. En las situaciones en las que, en estas patologías, se precise de la determinación de AAF, el despistaje de un posible efecto prozona deberá siempre tenerse en cuenta en todos los resultados negativos.

### CURVA DE CALIBRACIÓN DE FACTOR VIIIIC PARA VALORES ALTOS

*Autor/a/s:* Mercè Senar Ponte, María Carne Punfí Fiestas, Laura Redondo López, Nuria Padrós Ribas, Teresa Villalba Hernández.

Centro de trabajo: CATLAB, Centre de Analitiques Terrassa AIE  
Provincia: Barcelona  
Correo electrónico del primer firmante: merche.senar@gmail.com

### Introducción:

En nuestro laboratorio se determina el Factor VIIIc en dos contextos: en el curso de estudios de coagulopatía (TTPa alargado, estudio de síndrome hemorrágico, estudios familiares) y como factor de riesgo de eventos trombóticos. Hemos observado un elevado índice de repeticiones de análisis de la muestra por el analizador.

### Objetivos:

Conocer las causas de reanálisis

Conocer la distribución de valores de factor VIII en las muestras analizadas en nuestro laboratorio

Valorar si es posible configurar una nueva curva de calibración que permita analizar muestras con valores altos de factor VIII sin repetir el análisis.

### MATERIAL y MÉTODOS:

– Se realizaron 352 determinaciones factor VIII en el año 2010. Por intervalos: 13 con valor entre 0-50, 217 entre 51-150, 95 entre 151 a 251, 26 >251

– Analizador STA-Rack de Stago-Roche. Reactivo: STA-factor VIII de Stago-Roche

– Valores de curva de calibración de la técnica:

Concentración	medida	interpolación
95%	50.5s	99%
48%	57.3s	45%
24%	63.5s	23%
12%	70.2s	12%

– Reanálisis con dilución 1/40 si >150%.

– Con esta curva el 26% de las muestras entra dentro de la curva de calibración y el 34% de determinaciones se repite, en ocasiones más de una vez (valores >300 hace dos rediluciones)

Se decide elaborar una nueva curva de calibración que comprenda valores más altos de factor VIII.

### Resultados:

Elaboramos una nueva curva de calibración con la que se obtienen los siguientes parámetros

Concentración	medida	interpolación
186%	43s	189%
93%	48s	92%
47%	53.4s	45%
23%	58.9s	24%

– Reanálisis y redilución 1/40 si >250%

De esta manera el 82% de los resultados de 2010 entraría en los valores de curva de calibración, por lo tanto más fiables, y solo un 7.4% debería ser reanalizado, por lo tanto se precisará un menor consumo de reactivo.

Los resultados inferiores al punto más bajo de la curva se repetirían utilizando la curva de calibración estándar; dada la baja frecuencia en nuestra serie esta medida es coste-efectiva. Se instaura este cambio en Junio de 2011 y se valora el consumo de reactivos en los periodos de Junio a Diciembre de 2010 y de 2011.

2010: 164 determinaciones, 7 kits de 6 viales de reactivo. 2011: 152 determinaciones, 3,5 kits.

### CONCLUSIONES:

Utilizando una curva de calibración de factor VIIIc para valores más altos obtenemos resultados más fiables con menor consumo de reactivo y menor tiempo de análisis.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 317**

### ENFERMEDAD HEMOLÍTICA DEL FETO/RECIÉN NACIDO GRAVE POR ALOANTICUERPO ERITROCITARIO ANTI-JKA

Autor/a/s: Ruíz Ferri, Amparo. Rodríguez Camacho, María Luisa. Domínguez Lomeña, María José. Ruíz Ortega, Elena. Alvarez Abad, Pilar.

Centro de trabajo: Hospital Comarcal de Melilla

Provincia: Melilla

Correo electrónico del primer firmante: amparo\_rufe@hotmail.com:

### Introducción:

La enfermedad hemolítica fetal o del recién nacido (EHFRN) o eritroblastosis fetal, se origina como consecuencia de la destrucción de los hematíes fetales inducida por la acción de aloanticuerpos IgG específicos derivados de la madre que atraviesan la placenta, y que reaccionan con un antígeno de origen paterno presente sobre los hematíes del feto y ausente de los hematíes maternos. La enfermedad comienza en la vida intrauterina afectando al feto y, más tarde, al recién nacido. La gravedad de la enfermedad puede oscilar desde anomalías hematológicas detectables únicamente mediante pruebas de laboratorio hasta la muerte fetal intraútero. Salvo que la madre haya estado sensibilizada previamente por transfusiones, es muy raro que la EHFRN se produzca en el curso del primer embarazo (0,4 a 2% de todos los casos).

Los aloanticuerpos de especificidad anti-Rh (D) son los de mayor importancia clínica, seguidos por los anticuerpos anti-c y anti-Kell. Los anticuerpos del sistema Kidd pueden producir Enfermedad Hemolítica Fetal o del Recién Nacido (EHFRN), que generalmente son de carácter leve.

### Objetivo:

Presentar un caso clínico de EHFRN grave por aloanticuerpo eritrocitario del sistema Kidd (anti-Jka).

### CASO CLÍNICO:

– Gestante de 29 años, correspondiente a su segunda gestación. Primera gestación sin incidencias. Seguimiento gestacional actual adecuado.

– En el estudio de anticuerpos irregulares del primer trimestre de gestación se objetiva resultado positivo, con especificidad anti-JKa a título 1/128, que se mantiene con la misma titulación en el control realizado a las 3 semanas del primero.

– Se deriva a la Unidad de Medicina Fetal de referencia para monitorización fetal.

– En la semana 29 de gestación, y ante signos indirectos de anemia fetal, se determina por cordocentesis la hemoglobina fetal, que se cuantifica en 5 g/dl, realizándose transfusión al feto intraútero.

– En la semana 30 de gestación, la gestante comienza con dinámica de parto. Se inicia tocolisis y pauta de maduración pulmonar fetal con corticoides. Progresión posteriormente a rotura de membranas y salida de líquido amniótico, procediéndose a cesárea, con obtención de feto vivo.

– El recién nacido prematuro presenta al nacer clínica de distrés respiratorio grave e ictericia franca. El hemograma refleja anemia importante (Hb 10 g/dl) con requerimiento transfusional neonatal.

– Precisa traslado e ingreso a la Unidad de Cuidados Intensivos, siendo sometido a exanguinotransfusión y fototerapia.

– Buena evolución posterior, siendo dado de alta a los 23 días del nacimiento, sin precisar seguimiento por el servicio de Hematología.

### CONCLUSIONES:

– Debe tenerse en cuenta la posibilidad de desarrollar EHFRN grave por aloanticuerpos distintos a los más prevalentes (anti-Rh (D), c y Kell), sobretodo en gestantes con antecedentes obstétricos previos o sometidas a transfusión.

– El presente caso clínico demuestra la importancia de la realización del estudio de anticuerpos irregulares a toda gestante en el primer trimestre de gestación para descartar aloinmunización, con el fin de programar el correspondiente seguimiento inmunohematológico y obstétrico adecuado en caso de resultado positivo.

– La monitorización fetal estricta permitirá indicar o no la cordocentesis para la correcta valoración del grado de anemia fetal y de una eventual transfusión, tal y como ocurrió en este caso.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 318**

### COMPARACIÓN DE DOS TÉCNICAS DE IMMUNOBLOTTING EN EL RECHAZO EFICIENTE DE LAS DONACIONES DE SANGRE INDETERMINADAS PARA VHC Y VIH

Autor/a/s: Rosana Rego, Ana Aldrey, Ana Baños, Sandra Costoya, Javier Fernández, Lourdes López, María López, Dolores Pereiro, Antonio Pérez, Susana Pérez, Marta Piñeiro, Rosa Rodríguez

Centro de trabajo: Centro de Transfusión de Galicia

Provincia: A Coruña

Correo electrónico del primer firmante: rosaana.rego.rodriguez@sergas.es

### Introducción:

Las donaciones de sangre se analizan mediante técnicas aprobadas de detección de anticuerpos, antígenos y/o ácidos nucleicos, para evitar la transmisión de enfermedades

infecciosas a través de la sangre transfundida. Las técnicas utilizadas para la posterior confirmación serológica de los anticuerpos frente a las infecciones por VHC y VIH, emplean generalmente inmunoblotting con proteínas recombinantes y/o péptidos sintéticos de regiones específicas de los virus. Los resultados indeterminados que proporcionen se traducen en problemas de especificidad (o sensibilidad) para la técnica, de logística para el Centro de Transfusión y de incertidumbre para los donantes. Incluso pueden tener trascendencia para un abastecimiento hemoterápico siempre limitado.

#### Materiales y Métodos:

Fueron seleccionadas en nuestro Centro muestras reactivas en el escrutinio para enfermedades infecciosas con resultado previo conocido por nuestras técnicas de inmunoblotting de rutina: Chiron RIBA® HCV 3.0 SIA y RIBA® HIV-1/HIV-2 SIA. Estos resultados fueron comparados con los de las técnicas Innogenetics INNO-LIATM HCV Score e INNO-LIATM HIV I/II Score. Entre ellos había varios resultados indeterminados (IND) pendientes de posible reentrada en la base de donantes activos.

#### Resultados:

La comparación de resultados se muestra en las siguientes tablas:

		INNO-LIA HCV SCORE			
		POS	IND	NEG	TOTAL
RIBA HCV 3.0 SIA	POS	6	1	0	7
	IND	1	3	4	8
	NEG	0	0	0	0
	TOTAL	7	4	4	15

		INNO-LIA HIV SCORE			
		POS	IND	NEG	TOTAL
RIBA HIV-1/2 SIA	POS	7	0	0	7
	IND	1	0	5	6
	NEG	0	0	2	2
	TOTAL	8	0	7	15

#### CONCLUSIONES:

Las dos técnicas de Innogenetics permiten recuperar una proporción importante de indeterminados, algunos de los cuales ya se habían vuelto negativos en la técnica de escrutinio habitual pero se mantenían indeterminados por los inmunoblotting de Chiron RIBA correspondientes.

INNO-LIA no disminuye la sensibilidad: los dos casos (uno en VHC y otro en VIH) de cambio de IND a POS están justificados por la presencia de ARN viral en las muestras (son verdaderos positivos); por el contrario, el único caso de cambio de POS a IND (en VHC) es ARN negativo.

Debido al reducido número de muestras del estudio, no se ha podido valorar la posible existencia de falsos reactivos característicos de las técnicas de INNO-LIA en exclusiva.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 321**

#### DETECCIÓN DE HEMOGLOBINOPATÍAS EN EL LABORATORIO EN 2010

*Autor/a/s:* Padrós Ribas, Núria; Senar, M.; Cejudo Lara, Arantxa; Lao Bretones, Rosa; Puig Fontanellas, Rosa; Ramos Gonzalez, Nerea; Villalba Hernandez, Teresa.

*Centro de trabajo:* Catlab (centre analitiques de Terrassa AIE)

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* nuria.padros@hotmail.com

#### INTRODUCCIÓN:

En nuestra sección de hematología del laboratorio Catlab, se analizan hemogramas procedentes de dos hospitales (Hospital Mútua de Terrassa y Hospital de Terrassa) y de varias áreas de atención primaria. Entre ellos existe un pequeño porcentaje de pacientes con hemoglobinopatías que pueden ser detectadas al realizar un hemograma o una HbA1c. Valorando datos del hemograma (eritrocitosis, microcitosis), bioquímicos (presencia o no de ferropenia) y añadiendo pruebas diagnósticas (HPLC, electroforesis) nos permite identificar a los pacientes portadores de defectos en las cadenas que forman la hemoglobina.

#### Objetivos:

Conocer el número y distribución de hemoglobinopatías (beta-talasemia, alfa-talasemia, beta-delta-talasemia y hemoglobinopatías C y S heterocigotas), detectadas en nuestra zona de análisis y descripción de los datos de hemograma, morfología, resultados de las distintas pruebas de diagnóstico.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

Durante el 2010 se analizaron 390089 hemogramas. En los hemogramas sospechosos de hemoglobinopatía y en las microcitosis detectadas se les añadieron estudios especiales, HbA2 i F, sobre todo en niños, mujeres embarazadas y estudios familiares que así lo requerían. Se anularon aquellos en los que el hemograma era normal, no se requería estudio familiar ni nada hacia pensar en un mayor riesgo de hemoglobinopatías. En las muestras en las que al analizar por HPLC la HbA1c se detectó un pico de hemoglobina variante añadimos electroforesis para completar estudio.

Las técnicas empleadas son:

- Hemograma : analizador Sysmex 2100 ( Roche Diagnostics)
- HbA2 y F: HLPC (HA-8160 de Menarini).
- Test de falciformación
- Electroforesis de hemoglobinas alcalina: Hidrasys (Sebia)
- Detección de Alfatalasemia: técnica de a-globin StripAssay (PCR-hibridación) de VienaLab Diagnostics.

#### RESULTADOS:

	Estudios	positivos	Hb media	VCM medio
Betatalasemia	977	312 (32%)	12.04	62.9
Electroforesis Hb	72	52 (75%)	12.4	72.06
Hb S heterocigota	32			
Hb C heterocigota	13			
Alfa talasemia	70	37 (53%) - 16 del 3.7 Kb heterocigota - 20 del 3.7 Kb homocigota - 1 del 5pb intron 5 locus a2	12.9	72.9

#### CONCLUSIONES:

La estrategia utilizada permite la detección de las hemoglobinopatías mas frecuentes y obviar pruebas innecesarias

Es importante la valoración de datos clínicos, demográficos y antecedentes familiares para descartar otras hemoglobinopatías

Se recomienda estudio molecular posterior si se precisa para consejo genético

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 325**

#### ANÁLISIS DE LAS REACCIONES TRANSFUSIONALES COMUNICADAS EN EL SERVICIO DE TRANSFUSIÓN DEL HOSPITAL NTRA. SRA. DEL PRADO EN 2011

*Autor/a/s:* Pérez Pérez Carolina, Barreiro Castro Belén, Blázquez Sánchez Rosa, Cantalejo Gutiérrez Adolfo, Pérez Peris Isabel, Pérez Fernández Julia, Gómez García Raquel, Lozano Moreno Inés, Conde Cañamero Montserrat, Simón Pérez Germán Rubén

*Centro de trabajo:* Hospital Ntra Sra del Prado

*Provincia:* TOLEDO

*Correo electrónico del primer firmante:* carolinabarbarre@hotmail.com

#### Introducción:

Los Servicios de Transfusión deben contar con un Sistema de Hemovigilancia para la detección de efectos y reacciones adversas asociadas a la transfusión, según lo publicado en el Real Decreto 1088/2005 y la Orden SCO/322 del año 2007.

Material y métodos:

Se realiza un análisis retrospectivo de las reacciones transfusionales comunicadas durante el año 2011 al Servicio de Transfusión del Hospital Ntra. Sra. del Prado (Talavera de la Reina, Toledo), que cuenta con 338 camas y con actividad medico-quirúrgica, urgencias y maternidad.

#### Resultados:

Durante el año 2011 se han transfundido un total de 5687 componentes sanguíneos, de ellos 5078 corresponden a concentrados de hematíes, 174 a unidades de plasma fresco congelado y 435 a pools de plaquetas. Durante este período se han comunicado 7 reacciones transfusionales, 4 fueron reacciones febriles (57,1%), 2 reacciones alérgicas (28,5%) y 1 caso (14,2%) de sospecha de lesión pulmonar aguda relacionada con la transfusión (TRALI) que no se confirmó en el estudio serológico. En 5 estas reacciones se han detectado gracias a la cumplimentación del informe de control transfusional. En cuanto a los componentes implicados en 6 casos fueron concentrados de hematíes (0,11% del total de hematíes transfundidos) plaquetas en otro caso (0,22% del total de plaquetas transfundidas). Todas las reacciones han sido de gravedad 1 (signos inmediatos sin riesgo vital para el paciente y resolución total de la complicación) salvo la sospecha de TRALI que fue de gravedad 2 (signos inmediatos con riesgo vital y resolución total). Además, en este

período se han detectado 5 casi-incidentes que no han llegado a tener efecto, en 2 casos se debieron a mala identificación de la petición de transfusión y en los 3 restantes a la incorrecta identificación de la muestra pretransfusional. También se han detectado 3 errores en la administración de componentes sin consecuencias para los pacientes afectados que han consistido en la administración de un pool de plaquetas a un paciente diferente al que se había indicado, transfusión de un concentrado de hemáties E+ a un paciente con anti-E y administración de un concentrado de hemáties a un paciente en base a un hemograma realizado con una muestra diluida.

### CONCLUSIONES:

Con la implantación del informe de control transfusional ha mejorado la detección de las reacciones transfusionales producidas en nuestro centro.

Debido a los errores producidos en la identificación de la muestra pretransfusional se están realizando sesiones formativas referentes a este tema en las unidades de enfermería del hospital.

Desde la Comisión de Transfusión se realiza un análisis de los casi-incidentes y errores detectados para detectar las causas y proponer soluciones.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 333

### COMPARATIVA DE LA INCIDENCIA DE LEUCEMIAS EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO LUCUS AUGUSTI CON LO PUBLICADO EN 2003 POR EL REGISTRO ESPAÑOL DE LEUCEMIAS

*Autor/a/s:* RODRÍGUEZ LÓPEZ-MOSQUERA CARLOS, VARELA COSTA MARÍA CARMEN, VÁZQUEZ PIÑEIRO MARÍA TERESA, LOSADA VALIÑA MARÍA CARMEN, NUÑEZ ASCARIZ MARÍA JOSÉ

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO LUCUS AUGUSTI

*Provincia:* LUGO

*Correo electrónico del primer firmante:* crodlop4@gmail.com

### Introducción:

Estudio comparativo de la incidencia de leucemias en el área de influencia del Hospital Lucus Augusti con los datos publicados por el Registro Español de Leucemias en 2003 y correspondientes al año 2002, donde Lugo aparecía como una de las tasas más altas de España.

### OBJETIVO:

Comparar los datos obtenidos en nuestro laboratorio con el estudio publicado en 2003 por el Registro Español de Leucemias.

### MATERIAL Y MÉTODO

En el año 2003 el Registro Español de Leucemias publicaba, en colaboración con 124 hospitales de todo el país, un estudio correspondiente al año 2002 de la incidencia de los distintos tipos de leucemias en España, incluyendo en el estudio la Leucemia Linfocítica crónica y aguda, Leucemia Mielocítica crónica y aguda, Síndromes Mielodisplásicos, otras Leucemias agudas, y las No Clasificadas, obteniendo datos muy dispares con los hasta esa fecha publicados por la International Association of Cancer Registries ( IARC ) donde además aparecía una tasa de incidencia mayor en el norte de España con respecto al sur, siendo Lugo en dicho estudio una de las tasas más altas con 13,6 hombres enfermos \* 100.000 habitantes/año y 10 mujeres enfermas \* 100.000 habitantes/año.

Como desde entonces no hay datos oficiales sobre incidencias de leucemias en España, hemos querido comparar dichos datos con los obtenidos en el laboratorio de nuestro Hospital durante los años 2010 y 2011, a través de 818 pacientes, bien sea a través del de registro manual de médulas, como de forma informatizada, apoyándonos para ello en los diferentes programas de Microsoft Office.

### Resultados:

De los 818 pacientes estudiados durante los años 2010 y 2011 se han obtenido los siguientes resultados

- 1) Durante el año 2010 han aparecido en nuestro hospital 70 nuevos casos de los diferentes tipos de leucemias, de los cuales 36 son hombres y 34 mujeres.
- 2) Durante el año 2011 han aparecido 68 nuevos casos de los diferentes tipos de leucemias, de los que 35 son hombres y 33 son mujeres.
- 3) Dado que el Hospital Lucus Augusti da cobertura sanitaria a 243000 habitantes, quiere decir que la tasa de leucemias \* 100.000 habitantes/año es de 14,8 para los hombres y 13,9 para las mujeres en el año 2010 y de 14,4 para los hombres y 13,5 para las mujeres durante el 2011.

### CONCLUSIONES:

Que si bien la incidencia total de leucemias ha aumentado un poco respecto al año 2002, sí es significativo el aumento de la incidencia en las mujeres que ha pasado de 10 casos nuevos\*100.000 habitantes/año en el 2002 a 13,9 y 13,5 casos nuevos \* 100.000 habitantes/año durante los años 2010 y 2011 respectivamente.

También es destacable el aumento de porcentaje respecto al de hombres pasando de un 42,37 % en el estudio del 2002 al 48,43 % y 48,38 % durante los años 2010 y 2011 respectivamente, lo cual supone un incremento mujeres afectadas del 6% en 8 años.

### BIBLIOGRAFÍA:

Registro español de Leucemias.

Registro de médulas del laboratorio de Hematología del Hospital Lucus Augusti.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 334

### INCIDENCIAS REGISTRADAS EN LA UNIDAD DE FRACCIONAMIENTO DEL CENTRO DE TRANSFUSIÓN DE GALICIA CAUSANTES DEL RECHAZO DE COMPONENTES SANGUÍNEOS

*Autor/a/s:* Iglesias Otero María del Sol, Isasi Fernández Fernanda, Burgo María, Prado Silvia, Alonso Ángeles, Suárez Elena, Guillán Juan, Herranz Cristina, Arcas Carina

*Centro de trabajo:* (Centro de Transfusión de Galicia)

*Provincia:* (A Coruña)

*Correo electrónico del primer firmante:* Sol.Iglesias.Otero@sergas.es

### RESUMEN:

El índice de donación actual en la Comunidad Autónoma de Galicia es de 41,5 unidades por mil habitantes y año. Hemos analizado, durante el período 2009-2011, las unidades de componentes sanguíneos (CS) procedentes de donación voluntaria (tanto de sangre total como aféresis) que fueron rechazadas antes del etiquetado y el motivo de rechazo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos se obtuvieron a partir del programa informático e-Delphyn (Hemasoft). Se analizaron los factores que impidieron el fraccionamiento de la bolsa y también los que imposibilitaron la obtención de un componente final leucodeplecionado: HCF (concentrado de hemáties), PQ (concentrado de plaquetas) y PF (unidad de plasma):

AP: Alteración de peso	DR: Donación de riesgo	PT: Problemas de temperatura
BP: Problemas en la inactivación (sellado y/o iluminación, otros)	EL: Extracción lenta	RI: Riqueza insuficiente
CA: Circuito abierto	FI: Filtración incorrecta	RO: Rotura
CF: Circuito abierto en aféresis	HN: Hemáties de aféresis no válidos	UL: Unidad lipémica
CP: Plasma hemático	LP: Plasma lipémico	VI: Volumen insuficiente
CQ: Agregados/fibrina	MC: Mala coloración	

Incidencias atribuibles a la Unidad de Hemodonación son: AP, CF, DR, EL, HN, RO de la sangre total (ST) y PT.

### RESULTADOS:

Los resultados expresados en porcentaje se han calculado en base al número de unidades procesadas en 2009 (112.930 de ST, 117.230 HCF, 118.442 PF y 14.955 PQ), 2010 (109.846 de ST, 114.052 HCF, 114.998 PF y 15.604 PQ) y 2011 (108.694 de ST, 112.214 HCF, 113.237 PF y 15.498 PQ) respectivamente.

	ST			HCF			PF			PQ		
	2009	2010	2011	2009	2010	2011	2009	2010	2011	2009	2010	2011
AP	1197 (1,06%)	1129 (1,03%)	1320 (1,21%)	24 (0,02%)	24 (0,02%)	38 (0,03%)	72 (0,06%)	64 (0,06%)	71 (0,06%)	23 (0,19%)	65 (0,42%)	95 (0,61%)
CA	98 (0,09%)	128 (0,12%)	109 (0,10%)	1 (0,0%)	0	1 (0,0%)	1 (0,0%)	0	1 (0,0%)	4 (0,03%)	4 (0,03%)	1 (0,01%)
D	19 (0,02%)	5 (0,0%)	8 (0,01%)	3 (0,0%)	7 (0,01%)	2 (0,0%)	4 (0,0%)	6 (0,01%)	2 (0,0%)	0	0	0 (0,01%)
FI	346 (0,31%)	295 (0,27%)	342 (0,31%)	361 (0,31%)	184 (0,16%)	260 (0,23%)	27 (0,02%)	49 (0,04%)	61 (0,05%)	159 (1,06%)	169 (1,08%)	373 (2,41%)
UL	13 (0,01%)	1 (0,0%)	5 (0,0%)	2 (0,0%)	4 (0,0%)	11 (0,01%)	4824 (4,07%)	3594 (3,13%)	3453 (3,05%)	70 (0,47%)	55 (0,35%)	88 (0,57%)
R	50 (0,04%)	51 (0,05%)	69 (0,06%)	133 (0,11%)	212 (0,19%)	214 (0,19%)	41 (0,03%)	31 (0,03%)	44 (0,04%)	55 (0,37%)	84 (0,54%)	71 (0,46%)
EL	0	0	10 (0,01%)	12 (0,01%)	6 (0,01%)	1 (0,0%)	331 (0,28%)	537 (0,47%)	962 (0,80%)	35 (0,23%)	41 (0,26%)	34 (0,22%)
PT	0	0	13 (0,01%)	0	5 (0,0%)	17 (0,02%)				83 (0,55%)	61 (0,39%)	50 (0,32%)
	1.723 (1,53%)	1.609 (1,46%)	1.876 (1,73%)	536 (0,46%)	442 (0,39%)	544 (0,48%)	5300 (4,47%)	4281 (3,72%)	4194 (3,70%)	429 (2,87%)	479 (3,07%)	713 (4,6%)

### CONCLUSIONES:

El análisis nos permite conocer la incidencia real de CS desechados, imputables a nuestra área de trabajo, y en consecuencia, poder actuar sobre ellos para mejorar la eficacia en el proceso del fraccionamiento y manipulación de unidades. Aún así, el motivo de rechazo más significativo son las unidades lipémicas, dependiente específicamente del donante. Se manifiesta también, un incremento en el número de incidencias de CP procedentes sobre todo de aféresis.

**VALORACION DEL SISTEMA DE FRACCIONAMIENTO COMPOMAT G-5 Y BOLSAS COMFLOW SELECT**

Autor/a/s: Dopico Veiga Eva, Vazquez Castro Marcos, Delgado Azucena, Goas M<sup>a</sup> Carmen, Lopez M<sup>a</sup>, Rey M<sup>a</sup> Jesús, Varela José, Lourido Lidia, Castrillo Azucena

Centro de trabajo: Centro de Transfusión de Galicia

Provincia: A Coruña

Correo electrónico del primer firmante: edopicoveiga@gmail.com

**RESUMEN:**

Desde hace 2 años aproximadamente está disponible en el mercado el fraccionador de sangre total (ST), el Compomat G-5. En nuestro centro tenemos una experiencia de casi 20 años en el uso del fraccionador Compomat G-4, éste dispositivo nos ha permitido afrontar el procesamiento diario de toda la ST con los requerimientos establecidos y sin tener demoras por problemas técnicos.

El Compomat G-5 mantiene las prestaciones conocidas de su predecesor el Compomat G-4, y aporta una serie de novedades destinadas a la mejora del rendimiento y fácil manejo del sistema.

**MATERIAL Y MÉTODOS**

Con el fin de evaluar el nuevo sistema, se recogieron 200 unidades de ST en bolsas Comflow (configuración Top&Bottom) provistas de filtro de poliéster y carga neutra. Se transportaron refrigeradas en placas de butanodiol y permanecieron a 22°C durante toda la noche.

Se centrifugaron con un programa de alta velocidad (4497 g, 18 minutos a 22°C)

**RESULTADOS**

En el estudio realizado hemos recogido datos de volumen y recuentos celulares. El número de unidades y resultados se adjunta en la siguiente tabla:

	Nº	Volumen (ml)	Hb Total (grs)	Hto (%)	PQ Totales (x10 <sup>11</sup> )	Leucos residuales (CF)
Sangre Total	50	451.8±9.55				
Plasma	118	280.96±18.24				
CH leucodeplecionado	118 60 15	267.25±18.45	51.93±5.68	60.02±2.10		<1x10 <sup>6</sup>
BC	75	48.93±3.0	4.83±0.81	35.51±3.1	1.1±0.26	

Las unidades de ST fueron fraccionadas con el Compomat G-5, siguiendo la parametrización de las distintas funciones previamente establecidas. Cabe destacar como mejoras de este dispositivo:

- Ausencia de compresores externos
- Sistema de apertura de cánulas automático (opcional apertura manual)
- Prensa lateral del plasma con función de eliminación de aire

**CONCLUSIONES:**

Los componentes obtenidos cumplen los criterios de riqueza celular según los estándares vigentes.

El dispositivo de fraccionamiento evaluado aporta: rapidez, adaptación a todo tipo de bolsas, ahorro de espacio (menor tamaño que el G4); una mejora importante para los usuarios es la apertura automática de cánulas, lo que supone no ejecutar una operación repetitiva, que puede ocasionar lesiones.

**ESTUDIO DE TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA EN PROCEDIMIENTOS DE CADERA**

Autor/a/s: Pico Fernández Francisco Javier; Moreno Torres, Beatriz

Centro de trabajo: Hospital Comarcal Monforte de Lemos. Hospital Lucus Augusti

Provincia: Lugo

Correo electrónico del primer firmante: francisco.javier.pico.fernandez@sergas.es

**Introducción:**

La indicación de transfusión de concentrado de hematíes, se sitúa entre 7-9 g/dL; en

función de las patologías previas y edad del paciente<sup>1</sup>; diversos autores señalan que la hemoglobina pretransfusional es el principal valor predictivo de transfusión sanguínea intra y post operatoria.

Con el fin de mejorar la gestión de hemoderivados, creemos es posible la relación de hemoglobina, glucosa, función renal, proteínas totales, edad, diagnóstico y procedimiento quirúrgico como factores de predisposición a la transfusión.

**Objetivos:**

- Determinar la probabilidad de transfusión de modo independiente e interrelacionada de cada uno de los parámetros analizados.
- Identificar el sistema de ahorro de sangre idóneo para cada situación.

**MÉTODOS Y MATERIALES:**

Se ha realizado un estudio retrospectivo de 118 prótesis de cadera intervenidas en el año 2011 en el Hospital Comarcal de Monforte de Lemos, con estudio preoperatorio en los últimos 2 meses; utilizando para ello, los sistemas de gestión hospitalaria, Edelfin, Modulab gold, lanus, realizando un tratamiento de los datos obtenidos en Excell2007.

**Resultados:**

Procedimiento	% Procedimientos	Probabilidad transfusión
Sustitución total de cadera (81.51)	59.48 %	28.99 %
Sustitución parcial de cadera (81.52)	9.48 %	27.27 %
Reducción abierta de fractura de fémur con fijación (79.35)	5.17 %	
83.33 %		
Reducción cerrada de fractura de fémur con fijación (79.15)	25.86 %	41.38 %

Procedimiento	Edad			Hemoglobina (gr/dl)				
	<65	65-75	>75	<9	9-11	11-13	14-15	>15
<b>81.51</b>	36.6 %	15 %	34.21 %	ND	100 %	80 %	23 %	5 %
<b>81.52</b>	ND	ND	20.25 %	ND	ND	42 %	12 %	3 %
<b>79.35</b>	ND	ND	20.36 %	ND	100 %	100 %	ND	ND
<b>79.15</b>	ND	ND	44.4 %	ND	50 %	90.9 %	20 %	ND

Promedio sangrado(Hbg)	
4.4 gr/dl.	
Transfundido	No transfundido
4.8 gr/dl	4.4 gr/dl

	Daño renal	Diabetes	Hipoproteinemia	Daño renal + diabetes	Daño renal+ diabetes+ hipoproteinemia
Probabilidad transfusión	52 %	39.6 %	54 %	52.17 %	100 %

**CONCLUSIONES:**

No se observa interrelación entre volumen de sangre perdida y operador quirúrgico.

Se ha identificado una relación entre procedimiento quirúrgico específico y transfusión sanguínea.

A excepción del procedimiento de sustitución total de cadera, se ha identificado una relación causa efecto entre edad del paciente y consumo de hemoderivados.

Valores de hemoglobina superiores a 14 gr/dl disminuyen significativamente la probabilidad de transfusión.

El diagnóstico previo de daño renal o hipoproteinemia, eleva la probabilidad de transfusión; efecto que no se produce en diagnóstico previo de diabetes.

La coexistencia de daño renal, diabetes e hipoproteinemia inducen el casi seguro consumo de hemoderivados.

PROCEDIMIENTO DE AHORRO DE SANGRE	
Sustitución total de cadera .	Si hemoglobina inferior a 13gr/dl: Autodonación.
	Si hemoglobina superior a 13 gr/dl: Administración de Fe.

PROCEDIMIENTO DE AHORRO DE SANGRE	
Sustitución parcial de cadera.	Si Hbg inferior a 13 gr/dl Administración previa de EPO o Hierro. Si Hbg superior a 13 gr/dl. Sin tratamiento
Reducción abierta de fractura de fémur con fijación.	Procedimiento quirúrgico urgente, sin posibilidad de tratamiento previo.
Reducción cerrada de fractura de fémur con fijación.	
Si coexistencia de dos de los siguientes diagnósticos: Daño renal, diabetes, hipoproteïnemia: Autodonación	
Sistemas de uso compartido de unidades sanguíneas, o técnicas de tipaje y escrutinio no son valoradas, por no tratarse de técnicas de ahorro sanguíneo, sino, descenso de su inmovilización.	

**BIBLIOGRAFÍA:**

Anstee Harvey G. Klein & David J. Blood transfusión in clinical medicine s.l. Blackwell Publishing 2005

American Association of Blood Banks. Technical Manual AABB s.l. Mark E. Brekes 2005

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 364

### TROMBOCITOPENIA INDUCIDA POR HEPARINA: 6 AÑOS DE EXPERIENCIA EN SU DIAGNOSTICO POR ELISA

*Autor/a/s:* García Mateos, Estefanía; Martín Rodríguez, Lidia; Olá, Mercedes; Tassies Penella, Dolores; Monteagudo Terrés, Joan

*Centro de trabajo:* HOSPITAL CLINIC I PROVINCIAL DE BARCELONA. SERVICIO DE HEMOTERAPIA Y HEMOSTASIA. LABORATORIO DE HEMOSTASIA ESPECIAL.

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* garciam@clinic.ub.es

**INTRODUCCION:**

La Trombocitopenia Inducida por Heparina es una complicación del tratamiento con dicho fármaco infrecuente y grave, que puede ocasionar trombosis arteriales y venosas. Su origen es inmunológico, a través del desarrollo de anticuerpos dirigidos contra el complejo factor plaquetario 4 (PF4)-heparina que, en última instancia, producen una activación plaquetaria y el consiguiente desencadenamiento de los siguientes pasos de la coagulación en el interior del árbol vascular. La detección precoz y fiable de estos anticuerpos es de vital importancia para evitar estas complicaciones. Sin embargo, actualmente se conoce que existe un porcentaje considerable de falsos positivos causados por diversos motivos, desde limitaciones en el cribaje predictivo (Score 4T) y muestras incorrectas, hasta las instrucciones de cálculo de los propios kits comerciales.

**Objetivos:**

Determinar la relevancia cuantitativa de las densidades ópticas (DO) obtenidas en el ensayo ELISA y la importancia predictiva del Score 4T para incrementar la fiabilidad del despistaje de anticuerpos antiPF4/Heparina.

**Material y Métodos:**

Hemos estudiado retrospectivamente todos los pacientes a los cuales se les ha determinado los antiPF4/Hep en nuestro Hospital en los últimos 6 años, mediante técnica de ELISA realizada con el mismo kit comercial (PF4 IgG, GTI Diagnostics), siguiendo las instrucciones técnicas del fabricante, sobre muestras de suero obtenidas bajo las mismas condiciones. Los datos analizados han sido los siguientes: resultado final, DOs absolutas y relativas de las mediciones directas y de las obtenidas tras las incubaciones con heparina, y asignación de los scores predictivos correspondientes a cada caso.

**Resultados:**

Se han estudiado un total de 46 de pacientes, en dos de los cuales no se han obtenido datos suficientes para elaborar un score clínico previo. En 7 pacientes de 44 (15.9%) se detectó la presencia de IgG anti-PF4/Hep, y todos ellos evidenciaron DOs >1,000; 6 de ellos tenían un score predictivo  $\geq 4$ , mientras que en 1 caso el Score era <3. Un total de 35 pacientes (79.5%) mostraron DOs <0,500, siendo todos ellos negativos; de éstos, el 88.5% tenían valores de 0 a 3 en el score predictivo. En dos casos se detectó positividad con DOs entre 0,500 y 1,000. Por el contrario, ningún paciente negativo presentó DOs >1,000.

**CONCLUSIONES:**

A pesar de la importancia de los cálculos matemáticos exhibidos por los "inserts" de los ELISAs, basados en la relación de las DOs de los pacientes con las DOs de las inhibiciones con heparina, cobran especial relevancia cifras absolutas de DO >1,000. Los scores clínicos son esenciales en la predicción pre-ensayo, pero en modo alguno pueden sustituir la prueba analítica como herramienta de diagnóstico.

### (ANTICOAGULADOS EN EL ÁREA SANITARIA HOSPITAL SANTA BARBARA DE SORIA)

*Autor/a/s:* (Miranda Alfaro Gloria; Quesada García María José; Hernandez Asensio Pilar; Andrés Cercadillo Ana; Amo Checa María Angeles; Alonso Ontañón María José)

*Centro de trabajo:* (Hospital Santa Barbara )

*Provincia:* (Soria)

*Correo electrónico del primer firmante:* (gmirandaalfaro50@hotmail.com)

**INTRODUCCIÓN:**

En España se estima una población de 600.000 a 700.000 pacientes anticoagulados. La enfermedad tromboembólica y la patología cardiovascular, es una de las principales causas de muerte en los países occidentales, la prevención y el tratamiento farmacológico del tromboembolismo y la patología cardiovascular exige la utilización de anticoagulantes.

El tratamiento de la anticoagulación oral es una herramienta terapéutica eficaz y segura en la que un adecuado control resulta una herramienta esencial debido a los riesgos de hemorragias y complicaciones intrínsecas al tratamiento anticoagulante.

**Objetivos:**

Realizar un estudio sobre los pacientes anticoagulados que pasaron por nuestro laboratorio en el año 2011 en el área sanitaria del Hospital Santa Barbara de Soria y analizar los resultados obtenidos en función a su sexo y patología.

Se recogieron 3962 muestras de pacientes en tubos vacutainer cuyo anticoagulante es citrato de sodio.

**MATERIAL Y METODOS:**

La metodología utilizada basada en soporte informático, consiste en registrar los pacientes dividiéndolos entre hombres y mujeres y sus patologías a estudio. Mediante una regla C.A.R. separamos los pacientes con patologías: fibrilación auricular, trombosis venosa profunda, prótesis valvular y tromboembolismo pulmonar.

**Resultados:**

Se encontraron un total de 3962 pacientes anticoagulados de los cuales 2157 son hombres y 1085 mujeres.

La patología de mayor incidencia es la fibrilación auricular seguida de la trombosis venosa profunda, prótesis valvulares y tromboembolismo pulmonar.

De los pacientes estudiados en el periodo del año 2011 se reflejan los siguientes datos obtenidos:

PATOLOGIAS	HOMBRES	%	MUJERES	%
<b>Fibrilación auricular</b>	1268	58.75%	1025	52.78%
<b>Trombosis venosa profunda</b>	204	9.45%	171	9.47%
<b>Prótesis valvular</b>	98	4.54%	109	6.04%
<b>Tromboembolismo pulmonar</b>	76	3.52%	78	4.32%
<b>TOTAL FIBRI.AURICULAR</b>	1268		1025	57.87%

**CONCLUSION:**

Con los resultados obtenidos hemos podido constatar que la mayor incidencia de nuestros pacientes

anticoagulados es fibrilación auricular en el año 2011 con la suma de ambos sexos hacen un total del 57.87%

Otro dato a destacar en este estudio sería en el aumento significativo de prótesis valvulares y tromboembolismo pulmonar en mujeres.

# INMUNOLOGÍA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 039

## ENFERMEDAD CELÍACA Y PROTEÍNA C REACTIVA COMO MARCADOR DE INFLAMACIÓN INTESTINAL.

*Autor/a/s:* Vega Vargas Concepción, Ocaña Pérez Esther, Peña Casas Ana M<sup>a</sup>, Torres Carrasco Elena, Ocaña Ureña Carmen, Buitrago Melero M<sup>a</sup> Isabel, Merino Rivilla Pilar

*Centro de trabajo:* Complejo Hospitalario de Jaén. UGC Laboratorio y Alergia

*Provincia:* Jaén

*Correo electrónico del primer firmante:* mcwv0104@hotmail.com

### Introducción:

La enfermedad celíaca (EC) es una enteropatía en la que la ingesta de gluten produce inflamación crónica y daños en la mucosa del intestino delgado, cuya lesión oscila desde casos leves con ligera aparición de linfocitos intraepiteliales hasta formas avanzadas de atrofia, que tienden a desaparecer tras la retirada del gluten de la dieta. Estos linfocitos van a liberar mediadores de inflamación, poniendo en marcha una respuesta inflamatoria que va a determinar los cambios histológicos característicos de esta enfermedad. Las pruebas de la EC se utilizan principalmente para el cribado y el diagnóstico, aunque también se solicitan otras pruebas que ayudan a determinar la severidad de la enfermedad. Entre estas pruebas se incluye la Proteína C Reactiva (PCR), para evaluar el estado inflamatorio. La PCR es un reactante de fase aguda y su nivel aumenta durante los procesos inflamatorios. Este incremento es inducido por mediadores de la inflamación como la IL-6, que es producida por macrófagos, células endoteliales y linfocitos T.

### Objetivo:

Estudiar la utilidad clínica de la PCR como marcador de inflamación en la EC y su relación con el daño intestinal.

### Material y Métodos:

Se analizaron los niveles de PCR en pacientes con Ac anti-transglutaminasa positivos (AATG) (AATG > 10 U/mL) (n=97) y en un grupo control, se excluyeron pacientes con patología inflamatoria (n=100).

La determinación de PCR se realizó por nefelometría (BN-II, Siemens) y la de los AATG se llevó a cabo mediante ELISA (Orgentec, Palex Diagnostic). El análisis estadístico de los datos se realizó con el paquete estadístico SPSS 15.0. La comparación estadística entre los diferentes grupos se llevó a cabo mediante el test t-Student, aceptando p<0,05 como nivel de significación.

### Resultados:

El valor medio de PCR encontrado en el grupo control fue 3,06 mg/L (0 - 29,4 mg/L), y en el grupo de pacientes con AATG positivos fue 3,92 (0 - 68,8 mg/L), no encontrándose diferencias significativas entre ambos grupos. En el grupo de pacientes se detectaron niveles de PCR elevados en un 6,18% de pacientes y en el grupo control en un 15% de pacientes. Tampoco se encontró ninguna correlación entre los niveles de AATG y los niveles de PCR, que mostrara la utilidad clínica de la PCR como marcador de lesión intestinal.

**CONCLUSIONES:** De acuerdo con nuestros datos, la PCR no tiene ninguna utilidad clínica como marcador de inflamación en EC. Tampoco es un buen marcador de lesión intestinal. Por lo tanto, la PCR debería ser excluida del perfil de pruebas solicitadas a estos pacientes, e intentar buscar otros marcadores útiles de inflamación en EC.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 075

## CARACTERIZACIÓN DE DEFICIENCIA DE FACTOR I DEL COMPLEMENTO EN CINCO NUEVAS FAMILIAS

*Autor/a/s:* Garrido Herrero, Sofía; Criado Illana, Elena; Sanz Cob, Gracia; Alba Domínguez, María; López-Lera, Alberto; López-Trascasa, Margarita

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario La Paz

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* sofia.garrido@idipaz.es

### Introducción:

La deficiencia de Factor I del complemento se asocia con una enorme predisposición a padecer infecciones graves y recurrentes, que pueden comprometer seriamente la vida del individuo, sobre todo meningitis por meningococo. Esta "enfermedad rara" tiene como principal rasgo diagnóstico la presencia de niveles bajos de C3, con un C4 normal.

### Objetivos:

Caracterización molecular de la deficiencia de Factor I en cinco individuos y sus familiares remitidos a la Unidad de Inmunología del Hospital Universitario La Paz.

### Material y Métodos:

Siguiendo un protocolo establecido por nuestro propio laboratorio para la caracterización de deficiencias en la vía alternativa del complemento, se descartó la presencia de autoanticuerpos C3nef como causa de los niveles bajos de C3. En un segundo paso se midieron los niveles de Factor B, H e I del complemento, por ELISAs puesto a punto por nuestro laboratorio. Una vez caracterizada inmunológicamente la deficiencia, se procedió a secuenciar el gen de Factor I y se realizaron aquellas pruebas complementarias necesarias para completar la caracterización molecular (MLPAs y XL-PCR). Los diagnósticos moleculares se hicieron extensivos a otros miembros de las familias.

### Resultados:

En uno de los pacientes se encontró una deficiencia en homocigosis, para una mutación previamente descrita; los otros cuatro individuos resultaron ser heterocigotos compuestos para mutaciones no descritas previamente. La mutación más relevante es una gran deleción (>8Kb) que incluye al exón 2, y que fue confirmada por MLPA y XL-PCR. Se trata de la primera gran deleción descrita para este gen.

### Conclusiones:

- \* se describe por primera vez una gran deleción en el gen de Factor I del complemento
- \* las deficiencias en heterocigosis suelen asociarse con el Síndrome Hemolítico Urémico Atípico; las deficiencias en homocigosis suelen favorecer que el individuo padezca frecuentes y severas infecciones que pueden llegar a comprometer seriamente su vida, principalmente meningitis por meningococo.
- \* la deficiencia no tiene tratamiento específico a día de hoy, sin embargo su diagnóstico permite establecer eficaces pautas profilácticas con antibióticos y vacunaciones, que consiguen evitar muchos de los episodios infecciosos
- \* el hallazgo de estos nuevos cuatro casos, junto con los otros dos que ya describió previamente nuestro laboratorio hace menos de 6 años, nos lleva a pensar que esta "enfermedad rara" es más frecuente de lo que se tiende a pensar. Es probable que muchos casos no estén correctamente identificados y diagnosticados y por ello no se estén aplicando las medidas adecuadas para prevenir las infecciones.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 096

## EL TEST DE TRANSFORMACIÓN LINFOCITARIA (TTL) EN EL DIAGNOSTICO DE HIPERSENSIBILIDAD A FÁRMACOS

*Autor/a/s:* SOFIA SÁNCHEZ PASTOR, TERESA PLAZA GARCIA, MARIA JESUS PAGOLA DEL SANTO, YOSAIRA RIJO, SANTIAGO QUIRCE, MARIA TERESA CABALLERO MOLINA

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO LA PAZ

*Provincia:* MADRID

*Correo electrónico del primer firmante:* sofiasp48@gmail.com

### Introducción:

Las reacciones tardías de hipersensibilidad frente a fármacos suponen un reto diagnóstico. El test de transformación linfocitaria (TTL) frente a fármacos puede suponer una herramienta diagnóstica importante en esta área.

### Objetivos:

Describir el uso del TTL en el diagnóstico de hipersensibilidad tardía frente a fármacos.

### Material y Métodos:

Se incluyeron todos los TTL frente a fármacos realizados en pacientes adultos valorados en la unidad de medicamentos del servicio de alergia del Hospital Universitario La Paz. Se recogieron datos demográficos, clínicos, fármacos estudiados y resultados.

### Resultados:

Se han estudiado un total de 96 pacientes y un total de 83 fármacos diferentes. Se consideró positivo un índice de proliferación  $\geq 2/3/4$  según el fármaco estudiado.

Los diagnósticos comprendían exantema generalizado tardío, eritema multiforme mayor y síndrome de hipersensibilidad sistémica inducido por fármacos, entre otros.

En 61 pacientes el TTL fue claramente positivo frente a alguno de los fármacos estudiados, en 22 pacientes el TTL fue negativo y en 10 casos dudoso.

Los fármacos más frecuentemente estudiados fueron  $\beta$ -lactámicos, antiinflamatorios no esteroideos, inhibidores de la bomba de protones y contrastes yodados.

#### Conclusión:

Se confirma la utilidad del TTL en el estudio de reacciones tardías por fármacos, especialmente en los cuadros clínicos graves en los que el test de provocación está contraindicado.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 109

### EVOLUCION DE LAS SOLICITUDES DE DIAGNOSTICO DE CELIAQUIA EN EL AREA DEL ALJARAFE (SEVILLA)

*Autor/a/s:* GONZALEZ NAVARRETE GEMA, PALMA MORA JESUS, MONTILLA LOPEZ CINTA.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL SAN JUAN DE DIOS

*Provincia:* SEVILLA

*Correo electrónico del primer firmante:* rubiadelbarrio@hotmail.com

#### Introducción:

LA ENFERMEDAD CELIACA ES UNA ENTEROPATIA DE BASE INMUNOLOGICA DEBIDA A UNA INTOLERANCIA AL GLUTEN DE LOS CEREALES, QUE SE DA EN SUJETOS GENETICAMENTE PREDISUESTOS. SE CARACTERIZA POR UNA REACCION INFLAMATORIA QUE ALTERA LA MUCOSA INTESTINAL DEL INTESTINO DELGADO, PROVOCANDO LA MALABSORCION DE LOS NUTRIENTES. UN DIAGNOSTICO DE LA ENFERMEDAD CONLLEVA ANULAR DE LA DIETA DEL SUJETO LA INGESTA DE GLUTEN. HACE UNOS 20 AÑOS, ERA UNA ENFERMEDAD QUE SE DIAGNOSTICABA FUNDAMENTALMENTE A NIÑOS. EN LA ACTUALIDAD, LOS METODOS DE DETECCION HAN MEJORADO Y LA POBLACION ADULTA SE HA INCORPORADO A LOS ESTUDIOS DE DIAGNOSTICO.

#### Objetivos:

EVALUAR LA DEMANDA DEL PERFIL DE CELIAQUIA EN EL AREA DE SALUD DEL HSJD DE BORMUJOS EN EL PERIODO COMPRENDIDO DESDE 2006-2011. DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS POR PARAMETROS ANALIZADOS, DETERMINAR LA INCIDENCIA POSITIVA DE ÉSTOS. ESTUDIAR EVOLUCION POBLACIONAL POR GRUPO DE EDAD (INFANTIL/ ADULTOS) Y SEXO (MUJERES/HOMBRES). CON NUESTROS RESULTADOS COMPARAR LA PREVALENCIA CON LA PUBLICADA POR OTRAS SERIES RELACIONADA CON ESTA ENFERMEDAD.

#### Material y Métodos:

RESULTADOS RESTROPECTIVOS DEL PERFIL DE CELIAQUIA REALIZADOS EN EL LABORATORIO DEL HSJD (BORMUJOS) ENTRE EL 1-ENERO-2006 AL 31-DICIEMBRE-2011. LOS PARAMETROS ANALIZADOS EN MUESTRAS DE SUERO FUERON: ANTICUERPOS ANTIGLIADINA CLASE IGA (AGA) Y CLASE IGG (AGG) Y ANTICUERPOS ANTITRANSGLUTAMINASA TISULAR HUMANA CLASE IGA (AAiTG-A) Y CLASE IGG (AAiTG-G). EL ANALIZADOR USADO ES INMUNOCAP 250 (PHADIA). LOS DATOS SE OBTIENEN DEL SIL OPEN LAB DE ICONMEDIALAB.

#### Resultados:

EN LOS AÑOS EVALUADOS (2006 A 2011), SE REALIZARON 10576 SOLICITUDES DE ESTUDIO DE CELIAQUIA. LAS SOLICITUDES RECIBIDAS EN 2006 FUERON 735, MULTIPLICANDOSE POR 4 EN EL 2011 (3015). EN EL 2006, EL 65% DEL TOTAL PERTENECIAN A ADULTOS, INCREMENTANDOSE CADA AÑO EN UN 3%. EL MAYOR NUMERO DE PETICIONES PERTENECIA A MUJERES (63.14%). LOS PARAMETROS CON MAYOR POSITIVIDAD, EN ADULTOS, SON AGA Y AGG, MANTENIENDOSE CON UN 52.95% AGA Y CON UN 30% AGG. EN AMBOS PARAMETROS LA MAYOR INCIDENCIA DE POSITIVIDAD (60%) ES EN MUJERES. LOS PARAMETROS CON MAYOR RESULTADOS POSITIVOS EN NIÑOS EN EL PERIODO EVALUADO FUERON DE AGG CON UN 58.67% Y DE AAiTG-G CON UN 68%.

#### Conclusiones:

CON LOS DATOS OBTENIDOS, PODEMOS DECIR QUE EN NUESTRA AREA DE SALUD LAS SOLICITUDES DEL PERFIL CELIACO HAN IDO EN AUMENTO, INCREMENTANDOSE LA DEMANDA EN ADULTOS. DENTRO DE LA POBLACION ADULTA, MAYOR POSITIVIDAD EN MUJERES QUE EN HOMBRES. OBSERVAMOS MAYOR POSITIVIDAD, EN LA POBLACION INFANTIL, DE RESULTADOS DE AGG Y AAiTG-G FRENTE A LAS CLASES IGA, POR EL DEFICIT DE IGA EN ESTE GRUPO POBLACIONAL. CONCLUIMOS QUE LA RESEÑA "...AUMENTO DE NUMERO DE CASOS DIAGNOSTICADOS EN ADULTOS FRENTE A UNA ESTABILIZACION DEL NUMERO EN NIÑO..." Y " LA ENFERMEDAD CELIACA ES MAS FRECUENTE EN MUJERES QUE EN HOMBRES, CON UNA RELACION 2:1..." ("INTRODUCCION AL CONOCIMIENTO ACTUAL DE LA ENFERMEDAD CELIACA", EDITORES E. ARRANZ, J. A. GARROTE, 2ª EDIC., 2011) EN NUESTRA AREA DE SALUD SE CUMPLE.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 111

### ESTUDIO DE LA SEÑALIZACIÓN MEDIADA POR TLR-4 E IRAK-4 EN PACIENTE PEDIÁTRICOS CON NEUMONÍAS RECURRENTES

*Autor/a/s:* Morales Galán Carmen, Roque Cuellar Carmen, Guzman Espinosa Carmen, Lara Ruiz José Manuel, García González Teresa, Sánchez Sánchez Berta

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Virgen del Rocío

*Provincia:* Sevilla

*Correo electrónico del primer firmante:* carmogalan@hotmail.com

#### Breve Introducción:

Los niños con infecciones tales como enfermedad neumocócica invasiva pueden sufrir inmunodeficiencias primarias en la ruta de señalización mediada por el Receptor Tipo Toll-4 (TLR-4). En concreto, se ha encontrado deficiencia en la Kinasa-4 asociada al receptor de Interleukina-1 (IRAK-4) en pacientes con enfermedad neumocócica invasiva por *Streptococcus pneumoniae*. Recientemente, se ha descrito un método para detectar defectos en la señalización mediada por el TLR-4 basada en la detección mediante citometría de flujo de la rotura del ectodominio de la L-selectina CD62L en la superficie de los granulocitos, tras estimulación con el agonista del TLR-4 LPS (Lipopolisacárido Bacteriano).

#### Objetivos:

Estudiar alteraciones en la ruta de señalización mediada por TLR-4 e IRAK-4 en una cohorte de pacientes pediátricos con neumonía recurrente.

#### Material y Métodos:

Se extrajo sangre en heparina sódica de 30 pacientes pediátricos (edad: 4,23 años  $\pm$  2,49) que habían padecido varios episodios de neumonía. Se incubaron muestras de 100 ml de sangre sin estimular, con 2 mg/ml de PMA (miristato acetato de forbol; control positivo de activación), o con 1 mg/ml del agonista del TLR-4 LPS, durante 1 h a 37°C en atmósfera humidificada conteniendo 5% de CO<sub>2</sub>. Tras la activación de las muestras, se incubaron con 10 ml de anti-CD16-FITC y 10 ml de anti-CD62L-PE durante 15 min en oscuridad a T<sup>3</sup> ambiente, a continuación se lisaron los eritrocitos con 2 ml de FACSLysing Solution (BD Biosciences) y se lavaron por centrifugación-decantación con tampón fosfato salino (PBS). Las muestras se resuspendieron en 200 ml de PBS y se analizaron en un citómetro de flujo (FACSCalibur, Becton Dickinson). Los resultados se mostraron como histogramas de eventos analizados en la puerta de los granulocitos situada en un diagrama de SSC/CD16+.

#### Resultados:

En pacientes con deficiencia de IRAK-4 no se produce la pérdida de expresión de L-selectina tras estimulación con el agonista del TLR-4 LPS. En todos los paciente estudiados los niveles de expresión de CD62L en granulocitos tras incubación con LPS o PMA fueron mucho menores que la expresión de CD62L en granulocitos sin estimular, indicando que no había defectos en la señalización mediada por TLR-4 e IRAK-4.

#### Conclusiones:

Ninguno de los 30 pacientes pediátricos estudiados presentaba deficiencia de IRAK-4. La detección de CD62L en granulocitos tras estimulación de muestras de sangre total heparinizada con el agonista del TLR-4 LPS, puede emplearse para la detección rápida y económica de alteraciones del sistema inmune causadas por defectos en la señalización mediada por el TLR-4. Este método puede ser una herramienta útil para el inmunólogo pediátrico.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 120

### UTILIDAD DIAGNOSTICA DE LOS ANTICUERPOS ANTI SSA/RO

*Autor/a/s:* Ana Ynés Martínez Paredes, Aurora Menéndez González, M<sup>a</sup> Victoria González Isoba,

Lourdes Mozo Avellanad

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Central de Asturias ( HUCA)

*Provincia:* Oviedo

*Correo electrónico del primer firmante:* anaynes-@hotmail.com

#### Introducción:

Los anticuerpos ( Ac ) anti-SSA/Ro reconocen un péptido de 60 kDa y un péptido de 52 kDa. Los autoanticuerpos ( autoAc ) frente a estas dos proteínas suelen aparecer juntos en pacientes que son solo positivos para anti-SSA/Ro60 o solo para anti-SSA/Ro52. En la actualidad se sabe que estas proteínas están codificadas por genes distintos y localizadas en compartimientos celulares diferentes. La presencia de Ac anti-SSA/Ro52 sin anti-SSA/Ro60 se asocian a un amplio espectro de desordenes autoinmunes, siendo frecuentes en Lupus Eritematoso Sistémico ( LES ) y síndrome de Sjögren ( SS ). Además, estos Ac también se presentan en patologías no autoinmunes como neoplasias.

## Objetivo:

Determinar las asociaciones clínicas de los Ac anti-SSA/Ro52 y anti-SSA/Ro60.

## Material y Métodos:

Se seleccionaron 218 pacientes que durante la determinación de rutina de anticuerpos antinucleares (ANA) presentaron reactividad frente a SSA/Ro52 y/o SSA/Ro60, analizadas con el Kit EUROLINE (ANA Profile 3 EUROLINE, Euroimmun, Lübeck, Alemania) y cuya historia clínica estaba disponible.

## Resultados:

La prevalencia de sueros positivos con reactividad aislada anti-SSA/Ro52 fue del 27.5% (60 pacientes), con reactividad aislada anti-SSA/Ro60 del 14.7% (32 pacientes) y con reactividad frente a los dos antígenos del 57.8% (126 pacientes).

La prevalencia de enfermedades autoinmunes fue menor en el grupo de pacientes con Ac anti-SSA/Ro52, siendo similar en los otros dos grupos. La patología autoinmune que presentaba mayor asociación con la presencia aislada de Ac anti-SSA/Ro52 fue el SS con 24.4%, siendo el resto de 11.1% LES, 42.2% otras conectivopatías y 22.3% otras patologías autoinmunes. Por otro lado se observó una asociación estadísticamente significativa entre los Ac anti-SSA/Ro60 y LES ( $p < 0.05$ ).

## Conclusiones:

La frecuencia de enfermedades autoinmunes es significativamente menor en pacientes con reactividad aislada anti-SSA/Ro52. Existe una asociación entre SSA/Ro60 y LES. Dada la distinta asociación entre los Ac. antiSSA/Ro 52 y 60 es recomendable informar separadamente ambas reactividades.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 145**

## ANÁLISIS DE CÉLULAS EPITELIALES Y LINFOCITOS INTRAEPITELIALES EN PACIENTES CON SÍNDROME DE OJO SECO

*Autor/a/s:* Martino Mario, Roberto Reinoso, Martín Carmen, Margarita Calonge, Evangelina Castellanos, Itziar Fernández, Michael E. Stern, Alfredo Corell.

*Centro de trabajo:* Instituto de Oftalmobiología Aplicada

*Provincia:* Valladolid

*Correo electrónico del primer firmante:* mmartinos@ioba.med.uva.es

## Introducción:

El síndrome de ojo seco es una enfermedad multifactorial de la unidad funcional lagrimal (superficie ocular, glándulas lagrimales y párpados) que causa síntomas de malestar, trastornos visuales e inestabilidad de la película lagrimal. Esta patología se caracteriza por un incremento en la osmolaridad de la película lagrimal e inflamación de la superficie ocular provocando daños a nivel tisular.

## Objetivo:

Caracterizar fenotípica y funcionalmente células epiteliales conjuntivales y linfocitos intraepiteliales obtenidos mediante técnicas mínimamente invasivas en pacientes con síndrome de ojo seco.

## Material y Métodos:

Las células conjuntivales fueron obtenidas mediante citología por cepillado en 23 pacientes diagnosticados de ojo seco de tipo evaporativo. La recolección de las células de la superficie ocular fue realizada antes y después de que los pacientes fueran sometidos durante dos meses a un tratamiento anti-inflamatorio tópico. Además, se analizaron 17 individuos sanos para realizar el análisis comparativo con la población enferma. Se realizaron diferentes ensayos mediante citometría de flujo para determinar el fenotipo de las células epiteliales y los subtipos de linfocitos intraepiteliales (IELs) presentes, la viabilidad y/o etapa apoptótica y el ciclo celular de las muestras obtenidas.

## Resultados:

La viabilidad celular del epitelio conjuntival fue notablemente inferior en los pacientes de ojo seco que en los individuos sanos. Además, se observó un descenso significativo de IELs CD4+ y de la proporción CD4/CD8 en los pacientes de ojo seco después del tratamiento anti-inflamatorio. La capacidad proliferativa del epitelio conjuntival fue significativamente menor en los pacientes de ojo seco que en los sujetos sanos.

## Conclusiones:

Las células epiteliales conjuntivales obtenidas mediante citología por cepillado de pacientes de ojo seco de tipo evaporativo presentan diferente viabilidad, apoptosis y capacidad proliferativa que las obtenidas de sujetos sanos. Después de 2 meses de tratamiento, las células CD8+ incrementaron mientras que las células CD4+ y la proporción CD4/CD8 disminuyeron, demostrando la naturaleza inflamatoria de esta patología ocular.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 207**

## NUEVOS PRODUCTOS PIRRÓLICOS CON PROPIEDADES ANTI-INFLAMATORIAS Y ANTI-APOPTÓTICAS EN UN MODELO IN-VITRO DE LESIÓN PULMONAR AGUDA

*Autor/a/s:* Ramos Nuez, Ángela M<sup>a</sup> - Cabrera Benítez, Nuria Esther - Ríos Luci, Carla - Pérez Roth, Eduardo - Rodríguez Gallego, Carlos - Sologuren, Aithaisa - Padron Carrillo, José Manuel - Villar Hernández, Jesús.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín

*Provincia:* Las Palmas de Gran Canaria

*Correo electrónico del primer firmante:* shefloanse@hotmail.com

## Introducción:

Los compuestos pirrólicos son productos antiinflamatorios utilizados ampliamente en varios modelos in vitro.

## Objetivo:

En el presente estudio comparamos los efectos de dos compuestos pirrólicos 1,2,3,5-tetrasustituídos contra las propiedades inflamatorias y la inducción de la apoptosis de los lipopolisacáridos (LPS) de *Escherichia coli* (E. coli) en una línea celular humana de epitelio pulmonar (A549).

## Material y Métodos:

Los compuestos pirrólicos 1,2,3,5-tetrasustituídos impiden la disminución de supervivencia inducida por el LPS de E. Coli. Así mismo, disminuyen los niveles de citoquinas proinflamatorias IL-6 e IL-8. Un mecanismo posible que explique estos resultados sería una inhibición de los niveles de las proteínas TLR4 e I $\kappa$ B $\alpha$ .

## Resultados:

Los resultados del análisis de citometría de flujo y de la tinción con bisbencimida trihidrocloruro (Hoechst 33258) indicaron la disminución en porcentaje de la apoptosis en las células tratadas con LPS de E. Coli y los compuestos pirrólicos 1,2,3,5-tetrasustituídos, acompañados por una sobre-regulación de la proteína anti-apoptótica Bcl-2 así como una disminución de la regulación de la proteína pro-apoptótica Bax.

## Conclusiones:

Estos hallazgos sugieren que los compuestos pirrólicos 1,2,3,5-tetrasustituídos podrían tener una actividad anti-inflamatoria y anti-apoptótica en un modelo in vitro de lesión pulmonar aguda inducida por sepsis.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 213**

## ESTUDIO DE INCIDENCIAS DE ALERGIA ALIMENTARIA EN POBLACION INFANTIL DEL AREA DE GESTIÓN SANITARIA DE OSUNA

*Autor/a/s:* (OBLIGATORIO: Amparo Guerra Montaña, Olga Velasco Montero, Dolores Escalera García, Josefa Bermúdez Mérida, Mercedes Aguilar Velasco

*Centro de trabajo:* (Hospital "La Merced" AGS de Osuna)

*Provincia:* (Sevilla)

*Correo electrónico del primer firmante:* (aguerram@hotmail.es)

## Introducción:

Un alto porcentaje de niños en edad preescolar manifiestan síntomas de alergia alimentaria, siendo la más habitual la sensibilidad a la leche de vaca y/o al huevo. El término alergia se reserva exclusivamente para las reacciones con medición inmunológica y en la gran mayoría de los casos esta reacción es una respuesta inmunitaria mediada por IgE (alergia de tipo inmediato). Los síntomas suelen aparecer en el plazo de 1 – 2 horas tras la ingesta del alimento y frecuentemente provocan rinitis, trastornos gastrointestinales, urticaria, asma, angioedema o incluso shock anafiláctico.

## Objetivos:

Analizar las incidencias de intolerancia alimentaria en la población infantil (menor de 4 años del Área de Gestión Sanitaria de Osuna).

## Material y Método:

Se ha realizado un estudio retrospectivo de los años 2006 al 2011 en la población infantil menor de 4 años. A estos pacientes se les realizó el cribado de alérgenos alimentarios infantil, IgE específica a Clara de huevo (f1), IgE específica a la leche de vaca (f2) y la IgE específica al cacahuete (f13) en suero. El método utilizado ha sido Fluoroimmunoensayo mediante el analizador PHADIA 250 de Thermo Fisher Scientific. Los resultados de cribado infantil se informaron cualitativamente y los alérgenos individuales cuantitativamente (Positivo:  $> 0.35$  KU/L). A todos los cribados positivos se les realiza f1 y f2. El alérgeno f13 solo se realiza cuando f1 y f2 son negativos pero con cribado positivo.

## Resultados:

Durante los 6 años se han realizado un total de 2742 determinaciones de cribado infantil obteniéndose 824 positivas (30.05%). Los resultados positivos de IgE específica fueron: A clara de huevo (f1) 407 (49.48%), a leche de vaca (f2) 431 (52.32%) y cacahuete (f13) 177 (13%).

## Conclusiones:

La incidencia de intolerancia alimentaria en la edad preescolar (< 4 años) en el AGS de Osuna es de elevada, destacándose la hipersensibilidad a la leche de vaca en la mitad de la población infantil diagnosticada. Estos datos nos permitirán poder estudiar en un futuro la distribución por grupo de edad.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 239

### ADALIMUMAB INDUCE LAS CELULAS T REGULADORAS EN UVEITIS REFRACTARIA MEDIADA INMUNOLOGICAMENTE

Autor/a/s: CUELLAS GUTIERREZ CONSTANTINA, DEL ARBOL DEL ARBOL MARIA OLGA, ALLER LLANOS NIEVES, SANCHEZ SALAZAR MARIA ISABEL

Centro de trabajo: COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO DE LEON

Provincia: LEON

Correo electrónico del primer firmante: tinacuellas@orange.es

## Introducción:

Los fármacos anti-TNF, entre ellos el adalimumab, actúan bloqueando selectivamente una molécula, el TNF y por ello tienen un reconocido efecto antiinflamatorio en muchas patologías mediadas inmunológicamente como por ejemplo las uveítis de causa no infecciosa. Pero además, se ha descrito que podrían tener un efecto inmunoregulador a través de la inducción de linfocitos T reguladores. Estos linfocitos son un subgrupo de linfocitos T CD4+ que son capaces de suprimir específicamente respuestas inmunes T autoreactivas potencialmente responsables de enfermedades autoinmunes y autoinflamatorias.

## Objetivos:

Analizar las vías antiinflamatorias e inmunoreguladoras sobre las que actúa el adalimumab (fármaco anti-TNF) que podría ser útil para el control de la uveítis refractaria.

## Diseño:

Estudio experimental sobre los efectos del adalimumab en la población de células T reguladoras en pacientes con uveítis refractaria. Se analizaron parámetros inmunológicos e inflamatorios en 12 pacientes previos a tratamiento, al cabo de un mes y a los 6 meses de tratamiento junto con la clínica oftalmológica. Se compararon los resultados con los obtenidos en 10 pacientes tratados con prednisona sistémica.

## Resultados:

Al mes de tratamiento todos los pacientes experimentaron mejoría presentando enfermedad inactiva el 67% de los pacientes del grupo de adalimumab y el 80% del grupo de pacientes tratados con corticoides con una  $p=0.5$ . En los pacientes tratados con adalimumab y no en los pacientes tratados con corticoides hubo un incremento en células T reguladoras definidas como CD4+ CD25high Foxp3+ CD127- al cabo de un mes de tratamiento y se mantuvo a los 6 meses de tratamiento ( $p=0.003$ ). En el análisis individualizado de cada paciente el número de células T reguladoras correlacionaba con la enfermedad activa.

## Conclusiones:

En pacientes con uveítis refractaria tratados con adalimumab, la eficacia clínica puede estar relacionada con la regulación positiva de las células T reguladoras. Estas propiedades biológicas, que no se observan en pacientes tratados con corticoides podrían reflejar la especificidad de las vías sobre las que actúan los fármacos anti-TNF.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 241

### UTILIDAD CLINICA DEL ESTUDIO DE ESPECIFICIDADES ANTIGENICAS EN MUESTRAS ANCA+ MPO -/PR3 -

Autor/a/s: DEL ARBOL DEL ARBOL MARIA OLGA, CUELLAS GUTIERREZ CONSTANTINA, ALLER LLANOS NIEVES, SANCHEZ SALAZAR MARIA ISABEL

Centro de trabajo: INMUNOLOGIA. COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO DE LEON

Provincia: LEON

Correo electrónico del primer firmante: olarbol@hotmail.com

## Introducción:

Para el diagnóstico de vasculitis (enf de Wegener, PAN microscópica, enf de Churg-Strauss) asociadas a ANCA se utiliza la determinación de ANCA por IFI seguida del estudio de las especificidades MPO y PR3. Sin embargo, en un importante número de casos estas

especificidades son negativas. Existen especificidades dirigidas contra otros antígenos como la azurociclina, cathepsina G, elastasa, BPI que se han visto asociadas a enfermedades como artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, colangitis esclerosante, infecciones respiratorias crónicas e ingesta de fármacos.

## Objetivos:

Analizar en muestras de sueros ANCA positivos, MPO y PR3 negativos otras especificidades y cuáles son las enfermedades más frecuentemente asociadas.

## Material y Métodos:

Estudio descriptivo longitudinal. Se analizaron 112 pacientes con resultado ANCA positivo a los que se realizó estudio de especificidades MPO y PR3. En las muestras que fueron negativas se realizó el test para la determinación de otras especificidades (BPI, cathepsina, azurociclina, lisozima, elastasa). Se recogieron los diagnósticos de estos pacientes.

El análisis se realizó mediante ELISA cuantitativo.

## Resultados:

De las muestras ANCA positivas 22 fueron positivas para MPO y 5 para PR3. La mayoría de estos pacientes (72%) tuvieron un diagnóstico final de vasculitis. De los 85 restantes en 28 se encontró otra especificidad (33%): BPI 21, cathepsina 11, azurociclina 4, lisozima 4, elastasa 3. En estos pacientes los diagnósticos fueron: colitis ulcerosa, fracaso renal crónico y enfermedad pulmonar crónica con infecciones respiratorias.

## Conclusiones:

En más del 50% de muestras ANCA positivas no se pudo identificar una especificidad antigénica.

Otras especificidades distintas a MPO y PR3 no se asocian a vasculitis y si a enfermedades como colitis ulcerosa, infecciones respiratorias crónicas

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 261

### LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-TNF INFLUYE EN LAS DECISIONES TERAPÉUTICAS EN PACIENTES CON ESPONDILOARTROPATÍAS

Autor/a/s: Florencia Arribas Arribas, M<sup>a</sup> Susana Ramiro Latienda, M<sup>a</sup> Del Rosario Moral Hernando, Cristina Diego Valverde, Dora Pascual-Salcedo y Chamaida Plasencia Rodríguez

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO LA PAZ

Provincia: MADRID

Correo electrónico del primer firmante: chusinmuno@hotmail.com

## Introducción:

Las espondiloartropatías (EspA) engloban un grupo heterogéneo de enfermedades reumatológicas que tienen afectación principalmente del esqueleto axial. Aunque en los últimos años, el tratamiento anti-TNF ha demostrado ser eficaz en las EspA, aproximadamente un 30% de los pacientes con tratamiento anti-TNF desarrollan ineficacia. En la artritis reumatoide (AR), se ha demostrado que el desarrollo de anticuerpos (Ac) anti el primer anti-TNF determina la respuesta a un segundo anti-TNF.

## Objetivo:

Evaluar si en pacientes con EspA con fracaso a un primer anti-TNF, la eficacia del segundo anti-TNF se relaciona con el desarrollo de anticuerpos contra el primer fármaco anti-TNF.

## Material y Métodos:

Se estudiaron 33 pacientes con EspA que iniciaron tratamiento con un segundo anti-TNF tras haber tenido una respuesta insuficiente al primer tratamiento biológico anti-TNF. Los diagnósticos de los pacientes fueron: 23 (69.7%) Espondilitis Anquilosante (EA), 6 (18.2%) EspA indiferenciada, 2 (6.1%) EspA psoriásica, 1 (3%) EspA asociada a Enfermedad Inflamatoria Intestinal y 1 (3%) EspA reactiva. La actividad clínica se evaluó mediante ASDAS-PCR basalmente (al inicio del 1º e inicio del 2º anti-TNF), y a los 6 meses del cambio. La mejoría clínica se evaluó mediante el delta ASDAS (mejoría clínicamente importante = 1.1). Se determinó el HLA B27 mediante citometría de flujo. Los niveles séricos de Infliximab (Ifx) se midieron por ELISA (1). Niveles de Ifx superiores a 8 ng/ml se consideraron positivos (media+10 SD de 50 controles sanos). Los niveles séricos de anticuerpos antiinfluximab (ATI) se midieron por "bridging" ELISA (1). Niveles de ATI superiores a 50 (Unidades Arbitrarias/ml) AU/ml se consideraron positivos (media+10 SD de 100 controles sanos). El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS 11.0.

## Resultados:

De los 33 pacientes, 18 (54.5%) eran varones, la edad fue 50.09±10 años y el 63.6% (21/33) eran HLA B27 positivo. Todos fueron tratados inicialmente con anti-TNF: el 42.4% (14/33) con Ifx, el 9.1% (3/33) con adalimumab (Ada) y el 48.5% (16/33) con etanercept (Eta). Nueve de los 33 (27.3%) desarrollaron Ac anti-fármaco biológico durante el primer tratamiento [8 ATI y 1 Ac anti-Ada (ATA)]. Debido principalmente a ineficacia, el anti-TNF se cambió a un segundo anti-TNF: 7 (21.2%) cambiaron a Ifx, 16 (48.5%) a Ada, 5 (15.2%) a Eta y 5 (15.2%) a golimumab. No se objetivaron diferencias significativas en la actividad clínica basal medida por ASDAS-PCR al inicio del primer anti-TNF vs el segundo (3.45±0.99 vs 3.22±0.96,  $p=0.24$ ), así como tampoco en la actividad basal, en pacientes con Ac vs sin Ac, del primer (3.34±0.87 con Ac vs 3.50±1.04 sin Ac,  $p=0.936$ ) y

segundo (2.99±0.95 con Ac vs 3.31±0.96, p=0.374) tratamiento anti-TNF. A los seis meses del inicio del segundo anti-TNF, los pacientes que habían desarrollado Ac anti el primer anti-TNF, tenían una actividad clínica (ASDAS-PCR) significativamente inferior que los pacientes sin Ac anti-fármaco (1.76±0.98 con Ac vs 2.79±1.10 sin Ac, p=0.021). La mejoría clínica (delta ASDAS) fue mayor en los pacientes con Ac anti-fármaco (1.23±1.22 con Ac vs 0.52±1.08 sin Ac, p=0.063). La mayoría de los pacientes que tuvieron mejoría clínicamente importante habían desarrollado, previo al cambio, Ac anti-fármaco [60% (6/10) vs 40% (4/10), p=0.010].

#### Conclusiones:

Igual que en la AR, en las EspA, el fallo a un primer anti-TNF por desarrollo de Ac predice una mejor respuesta a un segundo anti-TNF. La presencia de Ac anti el primer anti-TNF es un factor determinante en la respuesta a un segundo anti-TNF. El estudio de la inmunogenicidad en el fallo al tratamiento biológico puede aportar datos importantes que ayuden a predecir la respuesta al segundo tratamiento biológico en EspA.

(1) D. Pascual-Salcedo . "Influence of immunogenicity on the efficacy of long-term treatment with Infliximab in Rheumatoid Arthritis". Rheumatology, 2011

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 299

### SIGNIFICADO DE LOS ANTICUERPOS ANTI HIPÓFISIS EN ENDOCRINOPATÍAS AUTOINMUNES

*Autor/a/s:* Francisca Yáñez Pereira, Carmen Salcedo Moreno, Montserrat Lozano Doncel, Elena Marco Castro, María Jesús Marcos Gutiérrez, María Asunción Julián Viñals, Pilar Nozal Aranda, Alicia García Rodríguez, Rita Álvarez Doforno

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario La Paz

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* tyanezpere@gmail.com

#### Introducción:

La determinación de anticuerpos anti hipófisis (AAH) es poco frecuente en la práctica clínica, posiblemente debido a su dificultad en la interpretación de los resultados. Se han detectado tanto en pacientes con hipofisitis como en otras enfermedades endocrinas autoinmunes, por lo que podrían resultar útiles en el diagnóstico y seguimiento de estas patologías. La inflamación de la hipófisis puede ser primaria o secundaria, siendo la hipofisitis autoinmune una enfermedad rara. El proceso de inflamación de la hipófisis lleva a lesiones que provocan dolores de cabeza y perturbaciones visuales a si como al fallo de varias hormonas producidas en la pituitaria.

#### Objetivos:

1º Puesta a punto de la técnica para determinación de Ac. anti hipófisis.

2º Determinar la prevalencia de AAH y otros anticuerpos órgano específicos en pacientes con sospecha y diagnóstico de endocrinopatías autoinmunes.

#### Material y Métodos:

Se recogieron sueros durante los años 2006-2011 de 77 pacientes con endocrinopatías autoinmunes y 13 controles sanos.

Los pacientes se agruparon en:

1º Insuficiencia suprarrenal secundaria aislada. 2º Deficiencias hormonales hipofisarias aisladas. 3º Hiperprolactinemia idiopática. 4º Síndrome poliglandular autoinmune. 5º Silla turca vacía. 6º Hipofisitis linfocitaria y panhipofuitarismo. 7º Controles sanos

#### Métodos empleados:

Se determinó la presencia de Ac.anti hipófisis (AAH), y de otros Ac.organoespecificos como Ac. anti islotes pancreáticos (ICA), Ac. anti glándula suprarrenal (NNA), Ac. anti ovario, Ac. anti células Leydig por Inmunofluorescencia indirecta (IFI).

En la técnica de IFI se utilizaron portas con diferentes sustratos de tejidos de mono sobre los que se incubaron diluciones seriadas de suero, a continuación se lava con tampón fosfato salino a pH 7.2 incubándose posteriormente con anti inmunoglobulina mono o polivalente marcada con isotiocianato de fluoresceína. Tras un nuevo lavado se añade medio de montaje para la colocación de cubreobjeto y se realiza la lectura en un microscopio de fluorescencia por un observador experimentado.

La presencia de Ac. anti tiroideos ( Ac. anti tiroglobulina y anti peroxidada tiroidea ) se determinó por el método automático EliA InmunoCAP 250. Phadia AB /ThermoFisher Scientific

#### Resultados:

Se han detectado AAH en el 17,4 % de los pacientes con hipofisitis; 21,4% de los pacientes con insuficiencia suprarrenal secundaria y con síndrome poliglandular autoinmune; 14,3 %de aquellos con silla turca vacía; 12,5% de los pacientes con hiperprolactinemia idiopática.

El 69,2% de los pacientes con AAH positivos presentaban también positividad para alguno de los otros anticuerpos estudiados. Durante el seguimiento se encontró seroconversión en 4 de los pacientes con AAH.

#### Conclusiones:

Los AAH aunque son raros, se detectan en un amplio rango de enfermedades autoinmunes endocrinas incluyendo la hipofisitis linfocitaria, encontrándose frecuentemente asociados a otros autoanticuerpos.

El significado de los AAH es incierto ya que no está aun bien definida debido a sus diferentes reactividades, por lo que sería imprescindible identificar las especificidades en cada una de las patologías a las que están asociados para esclarecer su papel en ellas.

Es necesario realizar un seguimiento de los AAH a lo largo del tiempo para relacionar la seroconversión con la evolución y pronóstico de los pacientes con este tipo de enfermedades autoinmunes órgano específicas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 303

### VALORACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE LA DETERMINACIÓN DE LA IGE ESPECÍFICA EN LA ÁREA DEL VALLÉS OCCIDENTAL

*Autor/a/s:* Ester Moreno, Carmen Rico, Josefina Luque, Angels Sangüesa.

*Centro de trabajo:* Caltab. Parc Logistic de Salut.

*Provincia:* (Barcelona)

*Correo electrónico del primer firmante:* emoreno@catlab.cat

#### Introducción:

El laboratorio Catlab cubre la comarca del Vallés Occidental (Barcelona) incluyendo dos hospitales Hospital Universitario Mutua de Terrassa y Consorcio Sanitario de Terrassa y 43 Centros de Asistencia Primaria. Con la finalidad de ayudar a los clínicos a racionalizar la demanda hemos revisado los resultados de la Ige específica de los dos últimos años.

#### Material y Métodos:

Se ha realizado un estudio retrospectivo de 49.209 determinaciones obtenidas en los años 2010 y 2011 registrando la edad del paciente, tipo de alérgeno, su resultado y origen peticionario. Se ha utilizado el analizador ImmunoCap 250 (Thermo Fisher).

#### Resultados:

De total de las determinaciones analizadas se ha informado como resultado positivo un 37.7% (punto de corte >0.35kU/L). El mayor porcentaje de resultados positivos se encuentra en los pacientes de 13 a 30 años siendo los pneumoalérgenos los más frecuentes, mientras que en los niños <5años los más frecuentes son los alimentarios. En la tabla siguiente se muestra la n de cada grupo, su alérgeno más solicitado con su porcentaje de positividad.

Ácaros (n=3879)	Alimentos (n=19375)	Epitelios y proteínas animales (n=3339)
Dermatophagoides pteronnyinus 71,7% (n=2493)	Alfa-lactoalbúmina 14,3% (n=2769)	Caspa de perro 45,5% (n=1538)
Polen de árboles (n=3037)	Polen de gramíneas (n=2897)	Polen de malezas (n=2141)
Olivo 62,3% (n=1470)	Raigrás 77,8% (n=1011)	Llantén 47,1% (n=533)
Mezclas (n=10478)	Levaduras y Hongos (n=1348)	Medicamentos (n=1641)
Phadiatop inhalants 42,5% (n=8493)	Alternaria alternata 48,1% (n=730)	Amoxicilina 1,72% (n=522)

Según la procedencia de la solicitud se observa que los provenientes de los servicios de alergia obtienen un 42% de resultados positivos y los de primaria un 27%.

#### Conclusiones:

Destaca la elevada positividad en los estudios de pneumoalérgenos frente a la baja positividad en los alérgenos alimentarios probablemente debido a que la solicitudes de estos últimos se concentra en pacientes <5 años donde la sintomatología clínica puede ser común a otras patologías. Esta puede ser también la razón del menor número de resultados positivos obtenidos en los alérgenos en los pacientes <5 años y >65 años.

Sería interesante estudiar los resultados de los alérgenos individualmente según su procedencia; primaria ó especialistas, ya que globalmente se ha observado un mayor número de resultados positivos en los pacientes procedentes de los servicios de alergia.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 307

### GAMMAPATÍAS MONOCLONALES DE SIGNIFICADO INDETERMINADO: ESTRATIFICACIÓN MEDIANTE CADENAS LIGERAS LIBRES DEL RIESGO DE PROGRESIÓN A GAMMAPATÍA MALIGNA

*Autor/a/s:* Borrega Guillén Josefa, Gonzalez Cobos Victoria, Cantarero Jimenez Mercedes(\*), Martín Milego Mónica(\*), García Gomez Marta(\*).

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO DE MÓSTOLES-HOSPITAL SEVERO OCHOA DE LEGANES(\*)

Provincia: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: pepaborgui@hotmail.com

### Introducción:

Las Gammopatías Monoclonales son un grupo de desórdenes que se caracterizan por la proliferación de una clona única de células plasmáticas que sintetizan una inmunoglobulina homogénea.

La Gammopatía Monoclonal de Significado Indeterminado (GMSI) se ha definido como la presencia de un componente monoclonal (CM) de concentración menor de 30 g/L, un recuento de células plasmáticas en médula ósea (M.O) menor del 10%, un CM en orina ausente o pequeño, y que no exista afectación orgánica.

En los pacientes diagnosticados de GMSI, se han establecido unos factores que permitan predecir el riesgo de progresión a Gammopatía Maligna (GM). Estos factores son: la cuantificación de CM > 15 g/L; la presencia de otros isotipos no IgG y la alteración del cociente de cadenas ligeras libres (CLL) en suero.

### Objetivo:

Nuestro objetivo es analizar los factores de riesgo de progresión a GM que presenta nuestra cohorte de pacientes diagnosticados de GMSI.

### Material y Métodos:

Estudiamos 176 pacientes en los que se detectó un CM, bien al ser estudiados por sospecha de GM o por tratarse de un hallazgo del Laboratorio. De ellos 99(55,9%) son mujeres y 77(43,5%) varones con edad media de 70 años y edades comprendidas entre 35 y 92 años. Los pacientes proceden fundamentalmente de los servicios de Medicina Interna (35%), Hematología 26,5% y Atención Primaria (17,2%).

En el estudio se valora la cuantificación de inmunoglobulinas (BNII. Siemens), electroforesis e inmunofijación en suero y orina (SEBIA), y cuantificación de cadenas ligeras libres kappa y lambda (CLL) en suero (The Binding Site. BN ProSpec. Siemens). Se calcula el ratio Kappa/Lambda. Valores de referencia entre 0,26-1,65. El análisis estadístico se realizó en SPSS.

### Resultados:

En nuestro estudio 59 casos (33,5%) con GMSI presentaron un CM con cuantificación mayor de 15 g/L.

En cuanto al Isotipo detectado, el 65,1% de los pacientes presentaron isotipo IgG (IgGK n=72; IgGL n=42); el 21,2% IgA (IgAK n=23, IgAL n=16); 10,8% isotipo IgM (IgMK n=16, IgML n=3) y en el 1,8%(n=3). se detecta un componente biclonal.

El 50,2% de los pacientes presentaron un cociente K/L alterado, de los cuales 13,1% mostraron valores disminuidos (<0,26) y un 37,1% valores aumentados (>1,65).

Finalmente, la estratificación del riesgo de malignidad según estos factores es la siguiente: 45 pacientes (25,6%) no presentaron ningún factor de riesgo de evolución a malignidad (riesgo bajo); 71(40%) presentaron un solo factor (Riesgo medio-bajo); 53 (29,9%) dos factores (Riesgo medio) y solo 7 pacientes (4%) presentaron los 3 factores (Riesgo alto).

Un subgrupo de 16 pacientes presentaron un cociente K/L en el rango sugerido para los pacientes con Mieloma Asintomático o quiescente (<0.125 o >8) y en 3 casos en rango de Mieloma Múltiple sintomático (<0.03 o >32).

### Conclusiones:

La cuantificación de CLL permite realizar el pronóstico de los pacientes con GMSI.

El uso de intervalos en los resultados del CLL mejora su interpretación clínica. Así, los pacientes con cociente < 0.125 o > 8 deberían tener un seguimiento clínico y analítico más frecuente y completo, que permita confirmar su diagnóstico, al ser susceptibles de desarrollar un trastorno maligno de células plasmáticas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 308

## CONCURRENCIA DE CADENAS LIGERAS LIBRES MONOCLONALES DIFERENTES EN EL SUERO Y EN LA SUPERFICIE DEL LINFOCITO B DEL MISMO PACIENTE

Autor/a/s: Josefina Luque Moral, Carmen Rico Serrano, Mireia González Lérica, Montserrat Alsina Donadeu, Judith Vidal Martínez

Centro de trabajo: Catlab. Parc Logístic de Salut

Provincia: (Barcelona)

Correo electrónico del primer firmante: pepi\_61\_69@hotmail.com

### RESUMEN:

Introducción. Los anticuerpos son proteínas plasmáticas llamadas inmunoglobulinas sintetizadas por los linfocitos B (LB) que median la respuesta inmunitaria humoral. Pueden encontrarse en dos formas: en forma soluble secretada en el suero y otros fluidos tisulares, y unida a la membrana celular anclada a la superficie de un LB. Los anticuerpos se componen de una cadena pesada, que define la clase o isotipo de anticuerpo (IgM, IgD, IgG, IgA e IgE) y una cadena ligera que es Kappa o Lambda.

Los síndromes linfoproliferativos crónicos B (SLPC-B) son procesos neoplásicos caracterizados por la proliferación clonal de células B maduras. Clásicamente se separan en síndromes linfoproliferativos crónicos B con expresión leucémica (leucemias linfáticas crónicas B) y sin expresión leucémica (linfomas no Hodgkin B y gammopatías monoclonales). Los SLPC-B generalmente, sólo expresan cadenas ligeras monoclonales (CLM) en la superficie del LB y cuando tienen expresión en suero, lo hacen con la misma cadena ligera libre (CLLM). Sin embargo, las gammopatías monoclonales no suelen tener expresión de CLM en la superficie del LB pero sí en suero y en elevadas concentraciones.

### Objetivos:

Poner de manifiesto la existencia de pacientes que expresan restricción de una cadena ligera en la superficie del LB en concurrencia con otra CLLM diferente en suero.

### Material y Métodos:

Se revisan los 246 casos de SLPC-B estudiados en el área sanitaria de la comarca del Vallés Occidental de la provincia de Barcelona durante el período 2010-2011 a raíz del hallazgo casual en uno de ellos de diferente expresión de CLLM en suero y en la superficie del LB. La técnica utilizada para la detección de cadenas ligeras Kappa ( $\kappa$ ) y Lambda ( $\lambda$ ) en la superficie celular del linfocito B es la citometría de flujo, en nuestro centro con el citómetro FACSCalibur (BD) y el reactivo MultiMix (DakoCytomation). Para la identificación del componente monoclonal en suero, se realizan los procedimientos de Inmunosustracción o Inmunofijación en función del tamaño del pico observado en el proteinograma y para ello se utilizan los analizadores Capillarys 2 e Hydrasis (Sebia) respectivamente. La cuantificación de las CLL séricas se lleva a cabo en el nefelómetro Image 800 (Beckman Coulter) con el reactivo FreeLite® (Binding Site).

### Resultados:

De los 246 casos revisados, 7 (2,8%) mostraron diferente CLLM en suero y en la superficie del LB. Se muestran en la tabla siguiente junto con sus diagnósticos, cuantificación del pico monoclonal y la dosificación de la CLLM.

CASOS	DIAGNÓSTICO	SUERO-IFIX	CM (g/L)	IgS-CMF	Suero $\kappa$ (mg/L)	Suero $\lambda$ (mg/L)
1	SLPC-B no filiado	IgG, $\lambda$	2.82	$\kappa$	14.4	18.9
2	SLPC-B no filiado VHC, VHB, Crioglobulinas isotipo IgM	IgM, $\lambda$ /IgM, $\kappa$	18.7	$\kappa$	20.9	18.6
3	LLC; Score 5/5	IgM, $\kappa$	9	$\lambda$	41.7	25.5
4	Linfoma Folicular CMV, Treponema	IgM, $\kappa$	10	$\lambda$	-	-
5	LLC; Score 5/5	IgG, $\lambda$	7.7	$\kappa$	-	-
6	LLC ; Score 5/5	IgG, $\lambda$	25.8	$\kappa$	-	-
7	Linfoma Folicular VHC	IgM, $\lambda$	2.03	$\kappa$	-	-

### Discusión y Conclusiones:

En tres de los pacientes concurrían infecciones virales, uno con Citomegalovirus (y además con infección por Treponema) y dos con el virus de la hepatitis C, éste último además presentaba crioglobulinemia exclusivamente IgM y una doble banda monoclonal en suero: IgM-  $\kappa$  e IgM-  $\lambda$ . Estas asociaciones ya han sido descritas anteriormente en la literatura. En los cuatro pacientes restantes no se encontró otra patología asociada por lo que pensamos que puede tratarse de la presencia de una banda monoclonal de significado incierto (MGUS) en todos los casos. Es importante tener en cuenta la posibilidad de la concurrencia de dos CLM diferentes en suero y en la superficie del LB ya que de ignorarla, la interpretación más inmediata es que se trate de un error de laboratorio.

# MICROBIOLOGÍA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 001

## FIEBRE Q: SEROPREVALENCIA EN EL AREA SANITARIA NORTE DE HUELVA

Autor/a/s: GARCIA VELA, JOSE HERMINIO, FRANCO ALVAREZ DE LUNA, FRANCISCO

Centro de trabajo: AGS NORTE HUELVA HOSPITAL RIOTINTO

Provincia: HUELVA

Correo electrónico del primer firmante: jhgvela@yahoo.es

### RESUMEN:

La fiebre Q todavía es una enfermedad poco conocida, a pesar de que se describió hace más de 60 años. Aunque tampoco se conoce la prevalencia exacta, probablemente el número de casos de fiebre Q está subestimado. La presentación clínica es muy variada e incluye formas graves con un mal pronóstico. Su elevada capacidad de supervivencia y la baja dosis infectiva convierten a *C. burnetii* en un candidato ideal para su empleo en bioterrorismo, y por ello está incluida en la categoría B de la lista de agentes de bioterrorismo del Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC). El presente estudio pone de manifiesto la seroprevalencia de Fiebre Q durante los años 2003 hasta 2011 en el Área Sanitaria Norte de Huelva.vv

### Introducción:

La fiebre Q es una zoonosis de distribución universal que afecta a diversas especies animales, especialmente rumiantes (vacas, ovejas y cabras, también pueden serlo otros animales domésticos), y de modo accidental al hombre. Fue descrita por Derrick en 1937 y, ese mismo año, Burnet, Davis y Cox identificaron el microorganismo como una rickettsia a partir de tejidos de cobayas inoculados experimentalmente y la denominaron *Coxiella burnetii*. Se transmite al hombre principalmente a través de aerosoles generados a partir de los productos del parto de las vacas y de otros animales. Clínicamente se caracteriza por un síndrome febril agudo, acompañado de neumonitis y hepatitis. La infección suele ser asintomática, pero se describen formas sintomáticas muy polimórficas e inespecíficas, de carácter agudo, que progresan favorablemente, junto con un número de casos que derivan en formas crónicas con afectación cardíaca, complicaciones y evolución fatal en ausencia de tratamiento. La sospecha y orientación clínica correcta, la necesidad de estudios complementarios de las funciones cardíaca y hepática, así como el correcto diagnóstico microbiológico constituyen un reto para el manejo adecuado de estos pacientes.

### Material y Método:

Se trata de un estudio descriptivo, de carácter retrospectivo desde julio de 2003 hasta septiembre de 2011, en el que se analizan los sueros de pacientes con síndrome febril de la comunidad. Hemos procesado un total de 1.859 muestras de pacientes pertenecientes a toda el Área Sanitaria Norte de Huelva, de ambos sexos y todas las edades, con sospecha clínica de Fiebre Q. Todas las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Microbiología, perteneciente a la UGC de Laboratorio del Hospital de Riotinto (Huelva). La determinación de anticuerpos anti IgG e IgM frente a *Coxiella burnetii* se realizó mediante un método de ELISA automatizado (Freedom evolyzer, TECAN, y Minilyser, ALERE®).

### Resultados:

En el periodo que abarca nuestro estudio, julio 2003-septiembre 2011, se han realizado un total de 2.429 determinaciones serológicas (IgG e IgM contra *Coxiella burnetii*), pertenecientes a 1.997 pacientes. De los 1.997 pacientes se solicitan estudios para seroconversión a 261 (13.06%), de los cuales se confirman como seroconversiones 21 de ellos (8.04%). Por otro lado, presentan anticuerpos IgG e IgM positivos un total de 81 pacientes (4.05%), los cuales se confirman como Fiebre Q agudas. Del total de los muestras, 288 (14.42%), han estado en contacto con *Coxiella burnetii* pues presentan marcadores IgG positivos compatible con infección pasada. En nuestro estudio encontramos que 208 pacientes (10.41%) presentan un perfil serológico con anticuerpos IgM positivos pero IgG negativos, que coinciden en una gran mayoría, con pacientes que presentan anticuerpos IgM positivo a otras patologías por lo que habría que descartar posibles interferencias serológicas. En estos casos, también, habría que descartar posibles infecciones agudas mediante estudios de seroconversión y cuadros clínicos presentados para descartar interferencias o Fiebre Q aguda. Por otro lado, 1.806 pacientes (90.43%) muestran ausencia de anticuerpos IgG e IgM frente a *C. burnetii*. Ver tabla 1

### Conclusiones:

El diagnóstico de fiebre Q debe considerarse en los casos de fiebre de origen desconocido (FDO), especialmente si el sujeto ha estado en contacto con mamíferos probablemente contaminados. En nuestro estudio encontramos enfermos con positividad en más de un tipo de anticuerpos IgM lo cual nos impide valorar adecuadamente la serología realizada. Aunque encontramos un gran número de muestras donde los anticuerpos IgG son negativos y los anticuerpos IgM positivos, no podemos hablar de infección aguda, clínicamente y ante ausencia de otros estudios en busca de posible seroconversión, este perfil serológico, nos indica posibles interferencias. Ante síndromes febriles persistentes con sintomatología compatible con infección por *Coxiella Burnetii* (FQ) y marcadores IgG e IgM negativos

deben de establecerse protocolos de actuación donde se incluya la realización de un nuevo estudio en busca de seroconversión serológica. Aunque no es posible determinar causa-efecto entre trabajadores y/o manipuladores de ganadería porcina con Fiebre Q, no estaría de más, realizar a dichos trabajadores con síndromes febriles determinación serológica para descartar posible infección por *Coxiella burnetii*. La mayoría de los casos estudiados proceden de dos áreas geográficas determinadas aunque distantes entre sí, por lo que no podemos concluir que exista relación de una con la otra.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 004

## SEROPREVALENCIA DE PARVOVIRUS B19 EN LA POBLACION DEL EL AREA NORTE DE GRANADA

Autor/a/s: ARANDA ARANDA MARIA DOLORES, MORON MARTIN MARIA ISABEL, GALINDO MARTINEZ JUANA, BELDA GRINDLEY FRANCISCA

Centro de trabajo: HOSPITAL VIRGEN DE LAS NIEVES

Provincia: GRANADA

Correo electrónico del primer firmante: LOLITAARANDA@YAHOO.ES

### Introducción:

La mayoría de las infecciones por Parvovirus B19 (PVB19) se producen en la época infantil y son, en su mayoría, asintomáticas aunque también se han asociado a cuadros clínicos como: abortos, anemia crónica en inmunodeprimidos, etc.

La epidemiología de PVB 19 en España es poco conocida, en la mayoría de los casos los datos proceden de estudios de brotes. El estudio de la seroprevalencia frente a PVB 19 permite conocer el estado inmunológico de la población frente al virus así como definir el perfil de susceptibilidad de dicha población frente a la infección .

### Objetivo:

Conocer la seroprevalencia de PVB 19 en nuestra zona en distintos grupos de edad.

### Material y Métodos:

Entre septiembre de 2010 y Enero 2011 se seleccionaron 245 sueros para determinación de IgG frente a Parvovirus B19, atendiendo a criterios de edad.

De las 245 muestras ensayadas, 129 (52.7%) pertenecían a varones y 116 (47.3%) a mujeres. Se realizó la estratificación en los siguientes grupos: de 2-9 años (47 sueros), de 10-19 años, (54 sueros), de 20-39 años (65 sueros) de 40-60 años (46 sueros) y > 60 años (33 sueros).

Se realizó serología frente a IgG de PVB19 mediante una técnica EIA (Novagnost parvovirus B19 IgG, siemens) siguiendo las instrucciones del fabricante.

### Resultados:

La seroprevalencia global en la población fue del 59.6%. Entre los hombres la seroprevalencia fue del 58.62% y entre las mujeres del 60.46%, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.95$ ) entre ambos sexos. Por estratos de edad la prevalencia fue de 29.79% en individuos de 2-9 años; 59.26% en el grupo de 10-19 años; de 72.31% en el grupo de 20-39 años, 69.56% en el grupo de 40-60 años y 63.64% en los mayores de 61 años. Se observaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al resultado obtenido en función del estrato de edad al que pertenecía el paciente ( $p<0.001$ ). La diferencia más notable entre los resultados se vio entre los grupos de 2-9 años y 10-19 años. En estos dos grupos de edad las prevalencias desglosadas fueron las siguientes: en el grupo de 2-5 años, 21.62% (8/37 sueros); de 6-10 años, un 58.33% (7/12 sueros); de 11-15 años, 57.89% (11/29 sueros) y de 16-19 años, 60.60% (20/33 sueros).

### Conclusiones:

La seroprevalencia frente a Parvovirus B19 obtenida en la población estudiada es similar a la obtenida en otros estudios realizados en nuestro país.

En la población estudiada a partir de los 10 años de edad el porcentaje de pacientes que tienen anticuerpos frente a Parvovirus B19 se mantiene prácticamente estable, encontrándose la mayor diferencia entre los niños de 2-5 años y los de 6-10 años.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 005

## SENSIBILIDAD DE UREAPLASMA UREALYTICUM EN MUESTRAS DE LIQUIDO SEMINAL EN EL AGS NORTE DE HUELVA.

Autor/a/s: GARCIA VELA, JOSE HERMINIO, FRANCO ALVAREZ DE LUNA, FRANCISCO

Centro de trabajo: AGS NORTE HUELVA HOSPITAL RIOTINTO

Provincia: Huelva

## RESUMEN:

El diagnóstico microbiológico de las infecciones causadas por ureaplasmas se ha visto limitado durante mucho tiempo por el crecimiento "altamente fastidioso" de estos microorganismos, la falta de medios de cultivo comercializados, la ausencia de procedimientos diagnósticos rápidos y la percepción extendida de que estos microorganismos tienen una importancia menor en el contexto de las enfermedades infecciosas. Esta situación ha cambiado notablemente en los últimos años gracias a los avances en los métodos de diagnóstico. En el presente estudio ponemos de manifiesto la identificación y sensibilidad de *Ureaplasma urealyticum* en muestras de semen de varones del Área de Gestión Sanitaria Norte de Huelva utilizando una galería de identificación y determinación de la sensibilidad.

## Introducción:

*Ureaplasma urealyticum* es una bacteria que se encuentra en los genitales del 70% de los hombres y mujeres. A pesar de transmitirse a través del contacto sexual, el *Ureaplasma urealyticum* no es técnicamente una enfermedad de transmisión sexual, puesto que puede no desarrollar la infección. Cuando se produce una infección por esta bacteria, ésta puede causar uretritis, infertilidad, abortos o afectar gravemente al feto. Se trata de una infección muy contagiosa que puede propagarse a través de la sangre, la saliva o incluso el aire. Muchas personas con esta bacteria no sufren ningún síntoma ni son conscientes que pueden contagiarla. *Ureaplasma spp.* es la especie que con mayor frecuencia coloniza el tracto urogenital humano pudiendo ser aisladas de hombres y mujeres asintomáticos. La colonización por *Ureaplasma spp.* en el varón oscila entre el 3-56 %, mientras que en la mujer, la colonización por *Ureaplasma spp.* oscila entre el 8,5-77% (siendo especialmente elevada durante el embarazo). El porcentaje de colonización en ambos sexos se relaciona con la actividad sexual, edad, y nivel socioeconómico.

## Material y Método:

Se trata de un estudio descriptivo, de carácter retrospectivo que abarca los años 2010 y 2011, en los que se analizan las muestras de semen de enfermos que acuden a la consulta de urología con síntomas de prostatitis, epididimitis, así como los que refieren contactos sexuales de riesgo. Asimismo, las muestras de semen de las parejas que acuden a la consulta de ginecología por problemas de infertilidad, todos compatibles con infección por *U. urealyticum*. Hemos procesado un total de 374 muestras de pacientes pertenecientes a toda el Área Sanitaria Norte de Huelva, varones de edades comprendidas entre los 19 y los 56 años siendo la media de edad de 40,13 años, con sospecha clínica de infección por *Ureaplasma*. Todas las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Microbiología, perteneciente a la UGC de Laboratorio del Hospital de Riotinto (Huelva). Todas las muestras son identificadas mediante un sistema que permite el cultivo, identificación, recuento indicativo y determinación de la sensibilidad a los antibióticos adecuados para *Ureaplasma* (*Mycoplasma IST2*, BioMérieux®). Consisten en galerías con micropocillos que contienen antimicrobianos liofilizados, generalmente, en dos o más concentraciones que corresponden a los puntos de corte propuestos para la clasificación del aislado como sensible, intermedio y resistente. La lectura de la prueba también se basa en la presencia/ausencia de cambio del color del medio de cultivo.

## Resultados:

En el periodo que abarca nuestro estudio, años 2010 y 2011, se han realizado un total de 374 determinaciones de semen.

En 69 (18.45%) hemos detectado *Ureaplasma urealyticum*, 51 (13.64%) muestras no se han podido estudiar debido a insuficiencia de la muestra o por la contaminación de la misma y 254 (67.91%) han resultado negativas. De todas las muestras positivas el 97.10% son sensibles a la azitromicina y a la doxiciclina. La resistencia que obtenemos es del 68.11% frente al ciprofloxacino y un 36.23% al Ofloxacino. Tabla 1 Y 2.

## Conclusiones:

La colonización del tracto urogenital por *Ureaplasma spp.* plantea dificultades en la valoración de su aislamiento a partir de muestras procedentes del tracto genitourinario inferior, siendo necesario el empleo de métodos de cultivo cuantitativos y el establecimiento de puntos de corte que permitan diferenciar colonización de infección, así como procedimientos de obtención de las muestras que eviten el paso a través de tramos colonizados. Por esta razón es difícil valorar en cada situación su papel como patógenos. En nuestro caso no realizamos cuantificación por lo que diferenciar la colonización de la infección se hace en base a otros criterios clínicos.

Es necesario el diagnóstico de las infecciones por *U. urealyticum* en semen, pues con frecuencia no son diagnosticadas porque en la mayoría de los casos son asintomáticas (70%). Estudios realizados para investigar la relación entre la infección por *U. urealyticum* y la calidad del semen, demuestran la influencia negativa de este patógeno en la calidad seminal, como en otros casos, la infección por *U. urealyticum* estuvo asociada con la alta viscosidad del semen y baja concentración de espermatozoides, todo ello, relacionado con casos de infertilidad. El tratamiento de elección y el que se utiliza en nuestro caso es doxiciclina durante 7 a 15 días. La estreptomocina también es efectiva, aunque al administrarse por inyección es una alternativa menos popular. Las penicilinas son inefectivas, ya que actúan sobre la pared celular y *U. urealyticum* carece de ella.

Es importante instaurar tratamientos efectivos pues los inadecuados pueden disminuir los

síntomas sin curar la infección, con una alta probabilidad de transmitir la enfermedad y de que ocurran complicaciones secundarias e infertilidad. Sin tratamiento, la enfermedad por lo general se resuelve en el término de 1 a 6 meses, aunque a veces la infección asintomática persiste después de esa fecha. El sistema *Mycoplasma IST BioMérieux®*, permite la detección de *Ureaplasma spp.* y *M. hominis* con un resultado cuantitativo y el estudio de la sensibilidad, a lo que contribuye el uso combinado del caldo Urea-Arginina (*Mycoplasma IST BioMérieux®*). En nuestro Centro donde no contamos con otras técnicas de identificación (PCR), podemos concluir que es un buen método para la identificación y estudio de la sensibilidad en muestras de semen.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 006

## DESCRIPCIÓN DE RIBOTIPOS Y PERFIL TOXIGÉNICO DE UNA COLECCIÓN DE CEPAS DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE AISLADAS DE 118 HOSPITALES ESPAÑOLES

*Autor/a/s:* Iglesias Cristina, Martín Adoración, Marín Mercedes, Alcalá Luis, Peláez Teresa, Sánchez-Somolinos Mar, Cercenado Emilia, Bouza Emilio.

*Centro de trabajo:* Hospital G.U. Gregorio Marañón.

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* nehasy\_ac@hotmail.com

## Introducción:

*Clostridium difficile* toxigénico es el principal agente causante de la diarrea asociada al tratamiento con antibióticos, sobre todo en pacientes hospitalizados. *C. difficile* puede ser toxigénico o no y las cepas toxigénicas pueden producir toxinas A, B o binaria. En los últimos años, se ha resaltado la importancia de dos ribotipos hipervirulentos (078 y 027), ambos productores de toxina binaria, que han provocado graves brotes de diarrea en distintos países de Europa y Norteamérica. También se ha descrito en Europa la aparición de brotes causados por cepas variantes toxina A-B+bin-. Actualmente, hay poca información acerca de las cepas de *C. difficile* que circulan en España. La caracterización molecular de este patógeno es una herramienta indispensable para conocer la epidemiología de esta infección en nuestro país.

## Objetivo:

Consiste en la caracterización molecular de una colección de cepas de *C. difficile* procedentes de 118 hospitales españoles.

## Material y Métodos:

Se estudiaron todas las cepas de *C. difficile* cultivadas en nuestro hospital, a partir de las heces diarreas recogidas en un día por 118 hospitales españoles.

El cultivo de las muestras de heces se realizó, tras el tratamiento con etanol, en agar CLO (BioMérieux®) selectivo para *C. difficile*. La identificación de los aislados se llevó a cabo mediante métodos microbiológicos convencionales.

La caracterización genotípica se ha basado en:

- Detección de los genes que codifican para la producción de toxinas A, B y binaria por PCR multiplex (Persson, CMI 2008 y Lemee, JCM 2004)
- Tipado molecular mediante PCR-ribotipado (Stubbs, JCM 1999) y posterior análisis filogenético con el programa BioNumerics® (Applied Maths)
- Toxinotipado mediante PCR y análisis de restricción (Rupnik, Microbiology 2001)
- Detección de mutaciones y/o deleciones en el gen regulador de producción de toxinas (tdcC) por PCR y secuenciación (Spigaglia, JCM 2002)

## Resultados:

Se cultivaron un total 988 muestras de heces. De ellas se aislaron 111 cepas de *C. difficile*, de las cuales 61 fueron toxigénicas (presencia de genes de alguna de las toxinas). Tras descartar las muestras duplicadas de un mismo paciente, se llevó a cabo la caracterización molecular de 57 cepas pertenecientes a 54 pacientes distintos.

Los perfiles toxigénicos obtenidos fueron: tox A+B+bin- (44 cepas), tox A+B+bin+ (9 cepas), tox A-B+bin- (4 cepas, pertenecientes cada una de ellas a un hospital distinto). No se encontraron cepas con otros perfiles. El toxinotipo más frecuente en este estudio fue el 0 (40 cepas). En cuanto al ribotipado, hubo 21 perfiles diferentes, de los cuales 6 agrupaban a 2 o más cepas. El ribotipo mayoritario fue el 014/020 (26,3%) seguido de los ribotipos 001 (17,5%) y 078/126 (12,3%). No se encontraron cepas pertenecientes al ribotipo hipervirulento 027. En 10 cepas se encontraron deleciones en el gen tdcC, de las cuales 9 fueron productoras de toxina binaria.

## Conclusiones:

El perfil toxigénico mayoritario en nuestro país es A+ B+ bin-.

Los ribotipos mayoritarios en nuestro estudio son el 014/020, 001 y 078/126. El ribotipo 014/020 es el más distribuido geográficamente.

Se han detectado cepas A- B+ bin- por primera vez en España.

En este estudio no se ha encontrado ninguna cepa perteneciente al ribotipo hipervirulento 027.

**DESCRIPCIÓN DE UN BROTE DE SARAMPIÓN EN ARAGÓN, AÑO 2011**

*Autor/a/s:* Nieves Felisa Martínez Cameo, Fernández Lacruz M. Pilar, Cristina Colmenarejo, Manuel Omeñaca Terés.

*Centro de trabajo:* Hospital General Universitario Miguel Servet Localidad:

*Provincia:* Zaragoza

*Correo electrónico del primer firmante:* nmcameo@gmail.com

**Introducción:**

En el año 1994 se introdujo la segunda dosis a los 11 años de la vacuna triple vírica (sarampión-rubéola-parotiditis) desde entonces las coberturas con dos dosis superan el 80%. En el año 2010 se situaron por encima del 95%.

Desde 1999 las incidencias anuales son inferiores a un caso por 1.000.000 habitantes.

**Objetivos:**

Detectar, investigar, caracterizar y controlar todos los casos aislados y los pertenecientes al brote de sarampión

**Material y Métodos:**

Siguiendo el protocolo descrito en el Plan de eliminación del sarampión y la rubéola en España, se recogieron muestras de sangre, orina y frotis faríngeo en los medios adecuados. Buscando IgM (ELISA, Enzygnost®) frente al virus del sarampión (de forma urgente) e IgG (VIDAS® Measles, Biomerieux) en contactos y en los casos de sospecha.

En el laboratorio de virología del H. Universitario Miguel Servet se realizó una PCR multiplex anidada con transcripción reversa (MNRT-PCR), según el protocolo desarrollado en el CNM.

**Resultados:**

El primer caso declarado fue un niño de 13 meses el día 10 de marzo, con fecha de inicio de síntomas el 4 de marzo

Hasta el 31 de agosto, se notificaron 29 casos confirmados de sarampión en la Comunidad Autónoma de Aragón.

Diez de los casos confirmados estaban relacionados con algún otro caso confirmado de sarampión, seis de los pacientes tenían relación laboral con otro paciente y cuatro relación familiar. Tres casos se relacionaron epidemiológicamente por trabajar en la misma empresa. El 55,2% hombres y 44,8% mujeres (13 casos).

El país de origen de todos los casos es España, el 68,9% residían en la ciudad de Zaragoza.

EL 51,7% de los casos presentaron fiebre, exantema y al menos uno de los siguientes síntomas: tos, rinitis, conjuntivitis.

El 37,9% precisaron hospitalización.

**Conclusiones:**

La detección de IgM específica se ha demostrado como una herramienta sensible y específica (no se detectaron falsos positivos) como prueba rápida para el diagnóstico urgente de caso de sarampión.

La MNRT-PCR utilizada es una excelente prueba complementaria a la detección de IgM, por su alta correlación con la serología y la posibilidad del posterior genotipado.

En nuestro medio hemos detectado la circulación de dos genotipos diferentes, similares a los que circulan mayoritariamente por Europa (B3 y D4)

Otras once comunidades autónomas y una ciudad autónoma, han notificado casos y brotes de sarampión en el año 2011. Los brotes que afectan a España y a Europa favorecen la importación y reimportación entre las comunidades autónomas y entre países.

Se ha producido un caso de sarampión en un niño entre 16 meses y 18 años (nacido desde 1999 en adelante), grupo de edad que debería haber recibido dos dosis de vacuna según calendario vacunal, en este caso el paciente no había recibido ninguna dosis de la vacuna.

**INFECCIÓN POR VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN EL ÁREA SANITARIA NORTE DE HUELVA.**

*Autor/a/s:* Franco Álvarez de Luna, Francisco, García Vela, José H. y Medina Jiménez, Mª José

*Centro de trabajo:* AGS NORTE HUELVA HOSPITAL RIOTINTO

*Provincia:* Huelva

*Correo electrónico del primer firmante:* jhgvela@yahoo.es

**RESUMEN:**

Los virus del papiloma humano (VPH) son un grupo de más de 150 tipos de virus relacionados, de los cuales más de 40 tipos pueden transmitirse sexualmente. Algunos de los VPH que se transmiten sexualmente pueden causar verrugas genitales, mientras que otros, llamados VPH de alto riesgo u oncogénicos, son los responsables de la gran mayoría de los cánceres de cuello de útero. En el presente estudio ponemos de manifiesto la prevalencia de los genotipos del Virus del Papiloma Humano (VPH) en las lesiones premalignas y malignas de cuello uterino en la población de mujeres del Área Sanitaria Norte de Huelva.

**INTRODUCCIÓN:**

Los virus del papiloma humano (VPH), o papilomavirus, son un grupo de más de 150 tipos de virus y se les llama papilomavirus porque algunos tipos pueden causar verrugas o papilomas. Los genotipos humanos más importantes están incluidos en los Alphapapilomavirus (mucosales) y Betapapilomavirus (cutáneos). Más de 40 tipos (genotipos) de VPH se transmiten sexualmente, y estos VPH se transmiten con mucha facilidad por medio del contacto genital. Algunos tipos de VPH que se transmiten sexualmente causan cáncer cervical y otros tipos de cáncer. Estos se incluyen dentro del grupo de los VPH de alto riesgo, oncogénicos o carcinogénicos. Los genotipos 16, 18, 45, 31, 52, 33 son los responsables de hasta el 80% de los casos de cáncer de cuello útero. Otros tipos de VPH (genotipos de bajo riesgo) se transmiten sexualmente, y no están relacionados con el desarrollo de tumores malignos. Aunque las infecciones por VPH son muy comunes, la mayoría aparecen sin síntomas y desaparecen sin tratamiento alguno en el transcurso de unos pocos años. Sin embargo, otras infecciones se mantienen en el tiempo y son éstas las que con mayor probabilidad pueden causar anomalías en las células, hasta el desarrollo del cáncer de cérvix.

**Material y Método:**

Se trata de un estudio descriptivo, de carácter retrospectivo de las muestras de cepillado endocervical, recibidas en el año 2011, procedentes de la consulta de ginecología en el marco del proceso de prevención del carcinoma de cuello de útero. Dentro de este estudio se ha procesado un total de 256 muestras de pacientes pertenecientes a mujeres de toda el Área Sanitaria Norte de Huelva. La citología líquida, fue el sistema de recolección, en la toma de muestra cervical, por parte del Servicio de Ginecología. Las muestras de citología cervical, se conservaron y dispersaron en la solución fijadora del sistema de recolección ThinPrep®. Esta solución se sometió a un proceso de preparación mediante AutocytePrep®, que dispuso la capa de células sobre un porta, que fue fijada con alcohol de 96°. Se realizó tinción de Papanicolaou mediante teñidor automático y finalmente se montaron, también de forma automática, colocándose un cubreobjeto para su conservación. El método de cribado para la detección de VPHs en las muestras de citología líquida, se realizó mediante PCR (Roche®) frente a los genotipos 16, 18 y un conjunto de VPHs de alto riesgo, entre los que se encuentran los genotipos (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68). Por otro lado, la Unidad de Anatomía Patológica visualizó la correspondiente citología y detectó aquellos pacientes que presentaron lesiones citológicas o histológicas malignas o premalignas, según los criterios del Sistema Bethesda. Los criterios seguidos en nuestro estudio para el procesamiento y envío al Laboratorio de Referencia para la detección de VPH son:

- Mujeres con citología ASCUS (atipias epiteliales de origen indeterminado) para identificar las que precisan estudio colposcópico.
- Mujeres con citología LSIL (lesiones en el epitelio el endometrio de bajo grado).
- Seguimiento de pacientes con diagnóstico LSIL o HSIL confirmado por biopsia seleccionadas después de colposcopia.
- Control de curación después de tratamiento de neoplasias intraepiteliales (HSIL –CIN III y Ca. In situ).

Se seleccionaron las muestras procedentes de pacientes con lesión y detección de VPH de alto riesgo.

**Resultados:**

En el periodo que abarca nuestro estudio, año 2011, hemos ensayado un total de 256 muestras de cepillados endocervicales, de las que 93 cumplieron con los criterios de lesión citológica más HPV de alto riesgo. El promedio de edad fue de 35 años, con un rango de edades comprendido entre los 16 y 72 años. Los niveles de alteración citológica en la población estudiada fueron los siguientes: 38 (41%) LSIL, 26 (28%) ASCUS, 29 (31%) HSIL. La frecuencia de genotipos según la lesión fue la siguiente: en el ASCUS (26) los genotipos más frecuentemente detectados fueron "Pull de alto riesgo" 17 (65%), "Genotipo 16", 4 (15%), "Genotipo 16 + pull alto riesgo" 3 (11%), "Genotipo 18", 2 (8%). En el LSIL (38), los genotipos más frecuentemente detectados fueron "Pull de alto riesgo" 29 (76%), "Genotipo 16", 3 (8%), "Genotipo 18 + pull alto riesgo", 2 (5%), "Genotipo 16 + pull alto riesgo" 2 (5%). En dos muestras se detectaron los genotipos 16 + 18 + pull de alto riesgo. En el HSIL (29), los genotipos más frecuentemente detectados fueron "Pull de alto riesgo" 13 (45%), "Genotipo 16 + pull alto riesgo" 9 (31%), "Genotipo 16", 5 (17%), "Genotipo 18", 2 (7%).

**Conclusiones:**

Se ha detectado de manera significativa la presencia de VPHs genotipos de alto riesgo no 16 y 18, en todos los tipos de lesiones de bajo y alto grado.

Sería interesante el estudio de la evolución de las lesiones de bajo grado con presencia de VPHs genotipos de alto riesgo no 16 y 18.

Destacar las ventajas de la citología líquida, como método válido para la realización de estudios complementarios al estudio anatomopatológico, en acto único.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 020

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 026

### TÍTULO: IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS ENTEROPATÓGENAS POR EL MÉTODO DE MALDI-TOF: (MATRIX-ASSISTED LASER DESORPTION/IONIZATION)

Autor/a/s: SAMPEDRO DE LA TORRE, INMACULADA CONCEPCIÓN; LIÉBANA MARTOS, M<sup>ª</sup> DEL CARMEN; VALVERDE SÁNCHEZ, ENCARNACIÓN; LARA OYA, ANA; GUTIÉRREZ FERNÁNDEZ, JOSÉ

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES

Provincia: GRANADA

Correo electrónico del primer firmante: inmasamp@gmail.com

#### Introducción:

En los últimos años se han desarrollado técnicas que pueden reducir drásticamente los tiempos de identificación de aislados en el laboratorio de Microbiología clínica, en comparación con las técnicas habituales basadas en pruebas bioquímicas y características morfológicas. Entre estos nuevos métodos se encuentra la espectrometría de masas.

#### Objetivos:

Determinar la utilidad de la espectrometría de masas (matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight o MALDI-TOF para la identificación de bacterias enteropatógenas en coprocultivos.

#### Material y Métodos:

El estudio se realizó sobre 175 muestras de heces recibidas en el Laboratorio del Servicio de Microbiología del Hospital Virgen de las Nieves entre enero y agosto de 2011. Las muestras se procesaron según el protocolo de la SEIMC, con medios de cultivo selectivos y diferenciales para la detección de enteropatógenos (*Campylobacter* spp., *Salmonella* sp., *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas* spp., etc.). A las colonias sospechosas de ser enteropatógenas se le realizó identificación mediante el sistema semiautomatizado Wider (Francisco Soria Melguizo, Madrid, España) o pruebas bioquímicas convencionales (oxidasa) y tinción gram y también mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF) por el método de transferencia directa y según las recomendaciones del fabricante. La exactitud de la identificación mediante MALDI-TOF se establece a través de una escala de puntuación (score) para determinar el nivel de identificación del aislado: Score <1,7: no identificación fiable; 1,7-2 Identificación a nivel de género; >2,3: identificación a nivel de especie. La concordancia entre ambas metodologías de identificación se determinó mediante la determinación del índice Kappa (K).

#### Resultados:

Se identificaron 70 enteropatógenos correspondientes a 70 muestras (40% de muestras positivas). Los aislados correspondían a: 38 *Campylobacter* spp. (21,71%), 10 *Aeromonas* spp. (5,71%), 20 *Salmonella* spp. (11,42%) y 2 *Yersinia enterocolitica* (2,8%). Mediante las técnicas habituales se identificaron 38 *Campylobacter* spp., 18 *Salmonella* spp., 10 *Aeromonas hydrophila* y 2 *Yersinia enterocolitica*. Ningún aislado obtuvo un score <1,7 en la identificación mediante MALDI-TOF. Se identificaron 17 aislados con score 1,7-1,9; 35 con score 2-2,3 y 18 con score >2,3. La identificación obtenida por MALDI-TOF coincidió a nivel de especie con la obtenida por las técnicas convencionales en 52 de los 70 aislados. Se observaron discrepancias en los resultados en 8 *Campylobacter jejunii* (score <2); 1 *Campylobacter coli* (score <2) 2 *Salmonella* sp. (score <2), 2 *Aeromonas hydrophila* (score <2), 4 *Aeromonas caviae* y 1 *Aeromonas veronii* (identificadas como *Aeromonas hydrophila* por Wider, ya que no discrimina el resto de las especies de *Aeromonas* spp).

El índice de concordancia entre ambas técnicas fue de  $k=0,97$  (IC95%: 0,93-1,0) a nivel de género, no pudiéndose establecer este índice a nivel de especie por diferencias en las bases de datos de MALDI-TOF y Wider.

#### Conclusiones:

Por su sencillez, rapidez y buena concordancia a nivel de género con las técnicas convencionales, la técnica de espectrometría de masas (MALDI-TOF) es una buena alternativa para su utilización en la identificación de aislados enteropatógenos en los coprocultivos de rutina en el laboratorio de microbiología.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 027

### ESTUDIO ETIOLÓGICO DE GASTROENTERITIS EN PEDIATRÍA DURANTE EL AÑO 2011 EN EL ÁREA SANITARIA JAÉN-NORTE.

Autor/a/s: Balbín Aránega María Catalina, Martínez palacios Gregorio, Martínez Balbín Elena, Ramos Sanchez Belen, Castillo López María, Figueroba García Rosario, Amores Antequera Carmen, Cantudo Muñoz Purificación.

Centro de trabajo: Hospital Universitario "San Agustín" de Linares.

Provincia: Jaén

Correo electrónico del primer firmante: balbinmaria@live.com

### STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE EN EL ÁREA SANITARIA VII DE ASTURIAS: LOCALIZACIÓN Y PATRÓN DE SENSIBILIDAD

Autor/a/s: María Teresa González-García, Margarita Gómez-Fontanil, Noelia Bernal-Pérez, Vanesa Rodríguez-García, Eva Piloñeta-González, Montserrat Fernández-Alvarez, Lucía Sanjurjo-Abad, Caridad Huerta-Campomanes

Centro de trabajo: Hospital V. Álvarez-Buylla

Provincia: Asturias

Correo electrónico del primer firmante: teretgg@gmail.com

#### Introducción:

*Streptococcus pneumoniae* puede originar gran variedad de síndromes infecciosos: otitis, sinusitis, conjuntivitis, procesos invasivos graves (meningitis, septicemia), etc. En las últimas décadas hemos asistido a un incremento de las resistencias de este microorganismo a los agentes terapéuticos más utilizados, variando dicha tasa de resistencia según la zona geográfica estudiada. Por todo ello se debe realizar una vigilancia continua de las resistencias que permita instaurar terapias empíricas adecuadas.

#### Objetivo:

Establecer la localización de los aislamientos y el patrón de sensibilidad de las cepas de *Streptococcus pneumoniae* aisladas en nuestra Área Sanitaria.

#### Material y Método:

Se realizó un estudio retrospectivo de las cepas de *Streptococcus pneumoniae* aisladas en nuestra Área Sanitaria durante 2010-2011. Los datos se obtuvieron del Sistema Informático de Microbiología. Las muestras se procesaron de acuerdo al protocolo vigente. La identificación de las cepas se realizó mediante aglutinación (Slidex pneumo-Kit; bioMérieux S.A.) y BBL-Crystal Gram positivos (Becton-Dickinson). El estudio de sensibilidad se realizó mediante microdilución en caldo (Medio MH con 3% sangre lisada de caballo y HEPES; WIDER, Francisco Soria Melguizo, S.A.) y Panel MIC Fastidiosos (WIDER I, Francisco Soria Melguizo, S.A.), siguiendo las recomendaciones del CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).

#### Resultados:

Se incluyeron en el estudio 31 cepas de *Streptococcus pneumoniae*, pertenecientes a 29 pacientes, 58,62% hombres (n=17) y 41,37% mujeres (n=12). La distribución por grupos de edad fue: 6 pacientes  $\leq 14$  años (20,68%; media 3,16 años; rango 1-10); 11 pacientes  $>14$  y  $\leq 65$  años (37,93%; media 51,18 años; rango 35-64); 12 pacientes  $>65$  años (41,37%; media 83,5 años; rango 75-90). Los aislados se obtuvieron de: sangre en 20 casos (64,51%), líquido cefalorraquídeo en 2 casos (6,45%), líquido ascítico en 2 casos (6,45%), exudado de oído externo en 4 casos (12,90%), exudado de glándula de Bartholino en 1 caso (3,22%), humor acuoso en 1 caso (3,22%) y exudado conjuntival en 1 caso (3,22%). En 2 pacientes se aisló *S. pneumoniae* en dos localizaciones, uno de ellos en ótico y sangre; y el otro en líquido ascítico y sangre. En la tabla se muestra el patrón de sensibilidad.

Tabla. Patrón de sensibilidad

	P	CEFUX	CTX	MER	LVX	ERIT	CLIN	VAN	TMP-SMX
Sensible (%)	23 (79,31%)	21 (72,41%)	28 (96,55%)	20 (68,96%)	27 (93,10%)	15 (51,72%)	23 (79,31%)	29 (100%)	20 (68,96%)
Intermedio (%)	1 (3,44%)	3 (10,34%)	-	6 (20,68%)	-	-	3 (10,34%)	-	4 (13,79%)
Resistente (%)	5 (17,24%)	5 (17,24%)	1 (3,44%)	3 (10,34%)	2 (6,89%)	14 (48,27%)	3 (10,34%)	-	5 (17,24%)

Penicilina (P), Cefuroxima (CEFUX), Cefotaxima (CTX), Meropenem (MER), Levofloxacino (LVX), Eritromicina (ERIT), Clindamicina (CLIN),

Vancomicina (VAN), Trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMX)

#### Conclusión:

En nuestra Área Sanitaria, la patología por *Streptococcus pneumoniae*: 1) Tiene una distribución similar por sexos. 2) Más de un 40% de casos se produjeron en mayores de 75 años. 3) La sensibilidad a penicilina, cercana al 80%, fue superior a la encontrada en otras Áreas de España; manteniéndose uniforme la sensibilidad a vancomicina. 4) En alérgicos a  $\beta$ -lactámicos la utilización de macrólidos requiere disponer de antibiograma. 5) Como terapia empírica ante infección sistémica con sospecha de *Streptococcus pneumoniae* y hasta que se disponga de antibiograma, se puede utilizar cefotaxima, levofloxacino o vancomicina.

### Introducción:

Los procesos infeccioso-entéricos están causados por diversos agentes etiológicos, entre ellos bacterias como: Campylobacter, Salmonella, Yersinia... Y virus como: Rotavirus y Adenovirus. Dado su elevado índice de morbi-mortalidad en determinados grupos (niños y ancianos) merece especial atención su estudio para prevención, diagnóstico, control y tratamiento.

### Objetivos:

- 1-Conocer los microorganismos causantes de gastroenteritis en nuestro medio, en la etapa infantil (0-10 años).
- 2-Estudio comparativo entre estos agentes patógenos.

### Material y Método:

Se procesaron para cultivo 553 muestras y para virus 112. Se obtuvieron 132 (23.8%) de resultados positivos. El aislamiento de las bacterias se realizó mediante cultivo de heces en: S.S. Agar, Agar Campylosel, Agar Yersinia y Caldo de Selenito (Biomerieux). La identificación y antibiograma se realizó mediante el sistema automático Micro-Scand (Siemens). Rotavirus y Adenovirus a través del test rápido inmunocromatográfico en cassette (Leti).

### Resultados:

Durante el año 2011 se detectaron 132 agentes patógenos: Campylobacter 61 (46.21%), Salmonella 30 (22.73%) de estas Salmonella grupo D 11 (8.33%), Salmonella grupo B 13 (9.85%), Salmonella grupo C 1 (0.76%) y Salmonella spp. 5 (3.8%) y Yersinia 2 (1.52%). En cuanto a virus: Rotavirus 30 (22.73%) y Adenovirus 9 (6.82%). En cuanto a sensibilidad antibiótica en Campylobacter: Ciprofloxacino 85% de resistencias. En Salmonella el serogrupo con mayor número de resistencias es el serogrupo B (77%) a Ampicilina. Sin embargo el serogrupo D mantiene su sensibilidad a Ampicilina con solo 9% de resistencia a la misma.

### Conclusiones:

- 1-Predominio de las infecciones por Campylobacter 46.2% del total de patógenos aislados en segundo lugar los virus 29.55% con mayor relevancia el Rotavirus 22.73%.
- 2-Alto nivel de resistencias a Ciprofloxacino en Campylobacter. En cuanto a Salmonella el serogrupo B es la de mayor número de resistencias.
- 3-Claro predominio de Rotavirus en los meses de Marzo, Abril y Mayo y de Salmonella en el mes de Septiembre. La distribución de Campylobacter ha sido regular a lo largo del año.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 032

### UTILIDAD DEL SISTEMA MALDI-TOF PARA LA IDENTIFICACIÓN DE ANAEROBIOS

*Autor/a/s:* Vázquez Barba Isabel Dolores, Gandía González María Aránzazu, Gómez Gómez María José y Lepe Jiménez Jose Antonio.

*Centro de trabajo:* H.H. U.U. Virgen del Rocío

*Provincia:* Sevilla

*Correo electrónico del primer firmante:* belyvb@hotmail.com

### Objetivo:

determinar la utilidad del sistema MALDI-TOF (matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight) para la identificación de bacterias anaerobias de importancia clínica.

### Material y Métodos:

se estudiaron 67 aislamientos bacterianos anaerobios (30 grampositivos y 37 gramnegativos) obtenidos a partir de diferentes muestras clínicas mediante metodología microbiológica habitual (API 20 ANA BioMerieux y/o MicroScan Rapid ANA ID Siemens) y mediante un sistema de MS MALDI-TOF Autoflex III (Bruker Daltonics).

La identificación mediante MALDI-TOF se puntuó automáticamente por el software del sistema de 0-3 en función de su fiabilidad. Los aislamientos con puntuaciones inferiores a 1,5 se consideraron no fiables.

La correlación entre ambas identificaciones se clasificó como correlación en la especie, el género o la ausencia de correlación. Así mismo, se valoró las no identificaciones por parte de algunos de los sistemas.

### Resultados:

La correlación entre la identificación convencional y MALDI-TOF a nivel de especie y/o género fue del 87% (a nivel de especie 61% (41), a nivel de género del 26% (17)), incluyendo especies del grupo Bacteroides fragilis, Clostridium spp, Prevotella spp, Peptostreptococcus spp y Propionibacterium acnes. El porcentaje de aislamientos no identificados por los sistemas convencionales pero sí por MALDI-TOF fue del 7% (5 aislamientos del género Clostridium y Prevotella), no identificados por MALDI-TOF pero sí por sistema convencional 3% (2 aislamientos del género Peptostreptococcus) y aislamientos sin coincidencia en la identificación entre ambos sistemas 3% (Anaerococcus vs Peptostreptococcus y Peptoniphilus vs Prevotella).

### Conclusiones:

la identificación de anaerobios mediante MALDI-TOF muestra una excelente correlación con la identificación mediante la metodología convencional. A ello hay que añadir que se trata de una tecnología que permite la identificación de los microorganismos a partir de colonias crecidas en placa de cultivo en apenas unos minutos con una metodología extremadamente simple y sin apenas consumibles.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 035

### ESTUDIO DE AISLAMIENTOS DE P.AERUGINOSA DE FENOTIPO MUCOSO EN NIÑOS CON FIBROSIS QUISTICA.

*Autor/a/s:* Rosario Muñoz Linares, Antonia Mª Fernandez Aranda, Mª Luisa Cubero Navarro, Mª José Artacho Reinoso, Jesús Ruiz Aragón.

*Centro de trabajo:* H. U. VIRGEN DEL ROCIO Localidad:

*Provincia:* SEVILLA

*Correo electrónico del primer firmante:* charogus@hotmail.com

### Introducción:

La fibrosis quística es una enfermedad causada por mutaciones en el gen que codifica la proteína CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), situado en el brazo largo del cromosoma 7. Su funcionamiento defectuoso ocasiona una alteración en el transporte de cloro y sodio en las células secretoras epiteliales, lo que da lugar a la aparición de manifestaciones clínicas multisistémicas, siendo las más relevantes las del tracto respiratorio (afección pulmonar progresiva) y las del sistema digestivo (insuficiencia pancreática y hepatopatía); sin olvidar otras como la deshidratación por pérdida de iones por el sudor o la infertilidad masculina por atresia o ausencia de los conductos deferentes.

### Objetivos:

Estudiar la prevalencia y la susceptibilidad a antibióticos de Pseudomonas aeruginosa de fenotipo mucoso frente al resto de microorganismos frecuentemente aislados en niños con fibrosis quística (Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae, levaduras, Aspergillus fumigatus, Burkholderia cepacia, Streptococcus pyogenes y otros).

### Material y Métodos:

Analizamos retrospectivamente las muestras respiratorias recibidas en el laboratorio de Microbiología del H.U. Virgen del Rocío procedentes de pacientes tratados en la Unidad de Fibrosis Quística del Hospital Infantil durante el período 2008-2012.

Los medios de cultivo utilizados fueron agar sangre, agar MkConkey, agar chocolate suplementado con bacitracina y medio selectivo para Burkholderia.

La identificación y la sensibilidad a antimicrobianos de los microorganismos aislados se realizó mediante el sistema automatizado microScan (WALK AWAY 96 PLUS y Paneles Neg Combo Panel Type 54, SIEMENS).

### Resultados:

Del total de muestras analizadas, resultaron positivas 2536; de las cuales, los principales microorganismos aislados fueron P.aeruginosa [32,3% (72% fenotipo mucoso)], Staphylococcus aureus (28,8%), levaduras (7,5%), Haemophilus influenzae (4%), Aspergillus fumigatus (3%) y Burkholderia cepacia (3%).

La procedencia de las muestras en las que se aisló P.aeruginosa de tipo mucoso fueron: esputo espontáneo (96,7%), exudado faríngeo (2,7%) y exudado nasal (0,6%). En los antibiogramas realizados, un 69,3% de las cepas fueron sensibles a cefepime, un 87% a ceftazidima, un 65% a ciprofloxacino, un 94% a colistina, un 82% a imipenem y un 76,8% a tobramicina.

### Conclusiones:

El principal microorganismo colonizador en vías respiratorias en niños con fibrosis quística es P. aeruginosa, siendo la presencia de las cepas mucosas especialmente relevante, dado que una vez producida la infección crónica es muy difícil su erradicación por presentar elevada resistencia al tratamiento antimicrobiano.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 036

### RESISTENCIAS GENOTÍPICAS DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX A ISONIACIDA Y RIFAMPICINA EN MUESTRAS CLÍNICAS DIRECTAS

*Autor/a/s:* ALEJANDRO BARBANCHO MARTIN, ANTONIO BERNAL CACERES, ELENA TENA ROJAS, INMACULADA SANTOS GARCIA

*Centro de trabajo:* HOSPITAL COSTA DEL SOL

*Provincia:* MALAGA

*Correo electrónico del primer firmante:* abarbancho@hotmail.com

## Objetivos:

Debido a las características de crecimiento del bacilo de Koch y a los medios de cultivo empleados en el laboratorio, un antibiograma para drogas de 1ª línea para el tratamiento de la tuberculosis, tarda en llegar al clínico entre 30 y 40 días. El objeto de este estudio es disminuir el tiempo de respuesta del laboratorio para determinar los patrones de resistencia genotípicos de *Mycobacterium tuberculosis complex* en muestras clínicas respiratorias mediante biología molecular y de esta forma optimizar el tratamiento antituberculoso.

## Material y Métodos:

Estudiamos 61 muestras respiratorias procedentes de diferentes pacientes diagnosticados de tuberculosis pulmonar en la provincia de Málaga. A todas las muestras se les realizó descontaminación y homogeneización con N-acetil-cisteína-NaOH, seguido del cultivo en medios sólidos de Löwestein-Jensen (Becton-Dickinson), medios líquidos (MB/BactAlert, Bio-Merieux) y tinción de Auramina-Rhodamina, para poder seleccionar las que tenían una baciloscopia positiva. Una vez crecido el cultivo a todas las cepas se les realizó el estudio de sensibilidad a fármacos de primera línea mediante el sistema automático con medios líquidos Bactec 960 MGIT (Becton-Dickinson). A todas las muestras respiratorias con baciloscopia positiva (61) se les realizó estudio genotípico de detección de mutaciones de resistencia a Isoniazida y Rifampicina mediante la técnica de hibridación reversa MTBDRplus (Hain LifeScience, Germany). Se estudiaron el gen *rpoB* para la Rifampicina, y los genes *katG* e *inhA* para la Isoniazida. Se procedió a una extracción manual del ADN mediante Genolyse (Hain LifeScience), seguido de una PCR y revelado mediante una hibridación reversa siguiendo las recomendaciones del fabricante.

## Resultados:

Obtuvimos un total de 32 (52,46%) cepas Isoniazida-resistentes en el estudio fenotípico mediante antibiograma convencional. En el estudio genotípico, en las muestras directas encontramos mutaciones en el gen *katG* en 13 (40,62%) y en el gen *inhA* en 6 (18,75%). Esto representa el 59,37% de las muestras con resistencia fenotípica a Isoniazida. Obtuvimos una resistencia fenotípica a Rifampicina en 14 (22,95%), de las cuales 13 (92,86%) muestras directas expresaron mutaciones en el gen *rpoB*. No encontramos ninguna mutación de resistencia con cepas fenotípicamente sensibles a los dos fármacos.

## Conclusiones:

El estudio de resistencias genotípicas a Isoniazida y Rifampicina en muestra directa tiene una buena correlación con las estudiadas fenotípicamente, especialmente con la Rifampicina. Esto facilitará la toma de decisiones clínicas para la instauración del tratamiento, y sobre todo reduce bastante el tiempo de respuesta para conocer el perfil de sensibilidad a estos fármacos de 30-40 días, de forma convencional, a 24-48 horas, con técnicas de Biología Molecular.

De todas formas, estas técnicas no pueden sustituir al estudio fenotípico convencional para la interpretación de la Isoniazida en la tuberculosis porque no detecta todas las mutaciones implicadas en la resistencia a este fármaco.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 042**

## DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN POR VIRUS EPSTEIN-BARR

*Autor/a/s:* MARIA DEL ROSARIO FIGUEROBA GARCIA, MARIA CASTILLO LOPEZ, MARIA LUISA RODRIGUEZ ESCRIBANO, MARIA FRANCISCA MUÑOZ MARIN, JUANA MORAL MORAL, MARIA CATALINA BALBIN ARANEGA, PURIFICACION CANTUDO MUÑOZ

*Centro de trabajo:* HOSPITAL SAN AGUSTÍN

*Provincia:* JAEN

*Correo electrónico del primer firmante:* rosariofg@yahoo.es

## Introducción:

El virus Epstein-Barr produce la mononucleosis infecciosa, enfermedad que tiene su máxima incidencia entre la infancia, adolescencia y adultos jóvenes. La clínica típicamente consiste en: fiebre prolongada, faringitis y adenopatías. Suele acompañarse de alteraciones bioquímicas y hematológicas. El diagnóstico es serológico poniendo de manifiesto los anticuerpos heterófilos (técnica de Paul-Bunnell (PB)) o demostrando la presencia de anticuerpos IgM específicos frente al antígeno viral de la cápsida (IgM-VCA). Ante un caso típico de mononucleosis infecciosa, un resultado positivo en la prueba de Paul-Bunnell es suficiente para el diagnóstico. Cuando el resultado es negativo y la sospecha es alta se debe realizar IgM-VCA por la posibilidad de falsos negativos.

## Objetivo:

Revisamos los resultados de las peticiones de estudio del virus Epstein-Barr durante el año 2011 para así ver:

- 1- En cuántas de ellas se obtuvo el resultado exclusivamente con los anticuerpos heterófilos sin necesidad de hacer IgM-VCA.
- 2- En cuántas se hizo IgM-VCA por la posibilidad de falsos negativos de los anticuerpos heterófilos y las edades
- 3- Establecer la concordancia entre los resultados de ambas determinaciones

## Material y Métodos:

Paul-Bunnell: Se basa en la prueba de absorción diferencial de Davidsohn, en ella los hemafíes de caballo son aglutinados por anticuerpos heterófilos asociados a la mononucleosis infecciosa. Los anticuerpos heterófilos dirigidos contra los antígenos de Forssman son absorbidos por los antígenos de riñón de cobayo pero no por los antígenos bovinos, mientras los anticuerpos heterófilos dirigidos contra la mononucleosis infecciosa son absorbidos por los hemafíes bovinos, pero no por los antígenos de riñón de cobayo. (Microgen bioproducts).

Una vez realizada la técnica de Paul-Bunnell se siguió el siguiente protocolo de trabajo:

- Con resultado negativo y analíticas sin alteraciones compatibles no se continúa con el estudio.
- Con resultado negativo y analíticas compatibles se realizó IgM-VCA.
- Con resultado positivo y analíticas compatibles no se continuó con el estudio.

IgM-VCA: Se realizó mediante el método inmuno-enzimático por inmunocaptura con detección final por fluorescencia (ELFA). (Minividas de bioMerieux).

## Resultados:

Se procesaron 867 muestras. 825 fueron negativas para los anticuerpos heterófilos y 42 positivas. En 214 de las que fueron negativas no se realizó IgM-VCA por no tener analíticas compatibles. Y en 19 de las que fueron positivas no se continuó con el estudio por tener analíticas compatibles. En total fueron 233 (28%) muestras en las que se llegó al diagnóstico sólo con la prueba de Paul-Bunnell. En el resto (634) se hizo IgM-VCA encontrando que en 611 con PB negativos 554 (91%) de ellos se confirmaron como verdaderos negativos por la ausencia de IgM-VCA y en 57 (9%) de ellos se trató de falsos negativos por la positividad de IgM-VCA. De los 57 falsos negativos por grupos de edad encontramos: 18 en los menores de 5 años; 14 en el grupo de 6 a 15 años; 21 los comprendidos entre 16 a 30 años y 4 en los mayores de 30 años. En 23 muestras que fueron positivas por Paul-Bunnell se hizo IgM-VCA por que las analíticas no eran compatibles; de ellas en 13 se confirmó verdaderos positivos y en 10 (43%) la IgM-VCA fue negativa (falsos positivos del Paul-Bunnell).

## Conclusiones:

En el 28% de las muestras se llegó al diagnóstico sólo con el resultado del Paul-Bunnell. El porcentaje de verdaderos negativos del Paul-Bunnell en aquellos en los que se hizo IgM-VCA fue muy alto, concluyendo que, podemos restringir aún más los pacientes en los que realizamos IgM-VCA, además de fijarnos en sus analíticas, atendiendo a la edad (menor número de falsos negativos en > de 30 años) y teniendo en cuenta la situación clínica. La técnica de Paul-Bunnell es sencilla, más económica y ofrece un resultado inmediato. Hay que tener en cuenta la posibilidad de falsos positivos de la técnica, encontrando en nuestro estudio un alto porcentaje.

Desconocemos las causas de estos falsos positivos aunque podría tratarse de anticuerpos heterófilos residuales de una infección pasada, infecciones agudas muy precoces donde aún no se ha positivizado IgM-VCA o reacciones cruzadas. Por ello, sería conveniente, en estos casos solicitar una nueva muestra para repetir estas determinaciones.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 044**

## ESTUDIO DEL VIRUS HERPES 8 EN DONANTES DE ÓRGANOS Y PACIENTES TRASPLANTADOS EN VALENCIA

*Autor/a/s:* Mocholí Moreno, Susana; Esteve Jiménez, Rosa; Rodríguez López, M<sup>a</sup> Carmen; Laforêt Rodríguez, M<sup>a</sup> Dolores; Cuellar Tovar, Sandra; Gimenez Martí, M<sup>a</sup> Jose; Lopez Hontangas, Jose Luis

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario La Fé

*Provincia:* Valencia

*Correo electrónico del primer firmante:* susanamocholi@hotmail.com

## Introducción:

El virus Herpes Humano tipo 8 (VHH8) es la principal causa del sarcoma de Kaposi, un tipo de cáncer que afecta la piel y los órganos blandos. VHH8 también está asociado con varios desórdenes sanguíneos. Es un virus poco frecuente. Solo de 1 a 5% de las personas en Norte América y en el norte de Europa están infectados. Las poblaciones del Mediterráneo tienen una tasa de infección alta (5-20%) y África Sub-Sahara tiene la más alta (>60%). Por todo lo anterior consideramos importante determinar el estatus virológico de los pacientes sometidos a trasplante en nuestro centro.

## Objetivo:

Realizar un estudio serológico y mediante pruebas de biología molecular de la presencia del VHH8 en donantes de órganos y pacientes trasplantados de nuestro centro.

## Pacientes y métodos:

Se estudió el estatus virológico de 117 muestras de sueros congelados correspondientes a 39 donantes de órganos y 39 pacientes trasplantados de distintos órganos (hígado, corazón, hematológicos, etc). Para cada trasplante se estudiaron tres muestras, una del

donante y dos del receptor (una pre-trasplante y otra post-trasplante). La determinación de anticuerpos IgG frente al VHH8, se realizó por enzimoimmunoanálisis en microplaca (Biotrin), y el ADN-VHH8 se llevo a cabo mediante una reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR HHV8, Nanogen) en un termociclador Applied Biosystem (ABI) 7300.

### Resultados:

Los resultados de la determinación de la IgG-VHH8 en los pacientes trasplantados fueron los siguientes:

Pre-trasplante	Post-trasplante	Nº Pacientes
Negativa	Negativa	28
Negativa	Positiva	4
Positiva	Positiva	3
Positiva	Negativa	2
Indeterminada	Negativa	1
Negativa	Indeterminada	1
<b>TOTAL</b>		<b>39</b>

La IgG-VHH8 fue negativa en todos los donantes de órgano.

La RT-PCR para VHH8 resultó negativa para todas las muestras de los pacientes estudiados.

### Conclusiones:

El VHH8 es un virus a tener en cuenta en pacientes con alteraciones de la inmunidad, como los trasplantados, ya que encontramos un 23% de los mismos (9) con determinaciones serológicas positivas en el pre, post-trasplante ó ambos. Por serología ha habido 4 seroconversiones no atribuibles al donante. Los resultados de la RT-PCR, aunque negativos en todas las muestras, sería importante realizarlos en muestras obtenidas recientemente para evitar el impacto de la conservación (congelación y descongelación) sobre todos en aquellas con la determinación de IgG positiva y su posible relación con la existencia de una baja carga viral.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 045**

### IDENTIFICACIÓN DE MICOBACTERIAS DE CRECIMIENTO RÁPIDO POR MALDI-TOF MS Y HAIN

*Autor/a/s:* Mocholi Moreno, Susana; Rodríguez López, Mari Carmen; Esteve Jiménez, Rosa; Iranzo Tatay, Agustín; Laforet Rodríguez, María Dolores; López Hontangas, Jose Luis

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario La Fe

*Provincia:* Valencia

*Correo electrónico del primer firmante:* susanamocholi@hotmail.com

### Introducción:

Las micobacterias de crecimiento rápido (MCR) son causa frecuente de enfermedad oportunista en pacientes inmunodeprimidos. Su identificación a nivel de especie es necesaria para determinar su importancia clínica y poder diferenciar entre patógeno colonizante o posible causante de enfermedad. A día de hoy, la identificación de MCR se basa en métodos bioquímicos y moleculares. Más recientemente, la espectrometría de masas, método basado en la comparación de perfiles proteómicos, se presenta como una herramienta interesante para la identificación de gran variedad de micorganismos.

### Objetivo:

El objetivo de este trabajo ha sido el identificar especies de MCR mediante MALDI-TOF MS (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry) y HAIN (reacción en cadena de la polimerasa; PCR)

*Métodos:* Se analizaron MCR aisladas de muestras clínicas de pacientes atendidos en el hospital Universitario La Fe de Valencia durante 2011. Para su identificación a nivel de especie se emplearon técnicas bioquímicas basadas en protocolos estándar, PCR seguida de hibridación reversa (GenoType® Mycobacterium CM/AS, HAIN Lifescience) y espectrometría de masas usando un espectrómetro microflex (Bruker Daltonik GmbH, Bremen) que compara los espectros obtenidos con la base de datos MALDI Biotyper 2.0, que incluye 23 especies de MCR.

### Resultados:

Se identificaron un total de 10 cepas de MCR por métodos bioquímicos. A nivel de especie, la PCR de HAIN identificó 3 Mycobacterium abscessus y 7 M. chelonae, mientras que la espectrometría de masas de MALDI-TOF MS identificó 6 cepas (60%) como género Mycobacterium, siendo 5 M. abscessus y 1 M. avium. Con este último método, el valor de identificación fue siempre menor de 2. Los resultados se presentan en la tabla 1.

### Conclusiones:

El método HAIN es muy útil para el diagnóstico de especie de las MCR. La espectrometría de masas es un método en expansión que, aunque actualmente no es preciso para la

identificación de MCR, podría llegar a ser muy útil por su sencillez y rapidez de obtención de resultado si se ampliara su base de datos.

	HAIN	MALDITOFF	Score
1	Mycobacterium abscessus	Mycobacterium abscessus	1,757
2	Mycobacterium chelonae	Lactobacillus satsumensis	1,398
3	Mycobacterium chelonae	Cryptococcus neoformans	1,196
4	Mycobacterium abscessus	Arthrobacter castelli	1,694
5	Mycobacterium chelonae	Gordonia rubripertineta	1,306
6	Mycobacterium abscessus	Mycobacterium abscessus	1,611
7	Mycobacterium chelonae	Mycobacterium avium	1,607
8	Mycobacterium chelonae	Mycobacterium abscessus	1,951
9	Mycobacterium chelonae	Mycobacterium abscessus	1,565
10	Mycobacterium chelonae	Mycobacterium abscessus	1,680

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 047**

### PREVALENCIA DE GENOTIPOS DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C Y COINFECCIÓN POR VIH EN EL ÁREA SANITARIA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO NUESTRA SEÑORA DE CANDELARIA EN EL TRIENIO 2009-2011

*Autor/a/s:* TORRES DÍAZ, Javier Lázaro - LARA PÉREZ, Magdalena - FELIPE GONZÁLEZ, María Dolores - RIVERA RUZ, Rocío - CARRASCOSA FERNÁNDEZ, Isabel - PÉREZ MENDOZA, Elicia - GONZÁLEZ SANCHEZ, Mercedes - GÓMEZ RUIZ, Esther Gloria - FAJARDO RODRÍGUEZ, Nayra - GONZÁLEZ FERNÁNDEZ, Carlos Manuel.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria

*Provincia:* S/C. de TENERIFE

*Correo electrónico del primer firmante:* javier-lazaro@hotmail.com

### Introducción:

El virus de la hepatitis C (HCV) pertenece a la Familia Flaviviridae y al Genero Hepacivirus; de ARN monocatenario, con forma esférica y posee envoltura. Existen al menos 6 cepas o genotipos principalmente y sus subgenotipos: genotipo 1 (subgenotipos: 1a, 1b, 1a o 1b, 1), 2 (2a o 2c, 2b, 2), 3 (3a, 3b, 3c, 3k, 3), 4 (4a/4c/4d, 4b, 4e, 4f, 4h, 4), 5 (5a) y 6 (6a o 6b). Estos grupos pueden encontrarse en diferentes zonas geográficas (tipo 1 más frecuentes en Europa o el 4 en África) y poblaciones de riesgo (subtipo 3a en individuos relacionados con el consumo de drogas de abuso en Europa y Estados Unidos).

La determinación de estos genotipos del virus en pacientes infectados nos orienta sobre la probabilidad de éxito de la terapia y de la duración del tratamiento para el HCV.

La coinfección en estos pacientes con VIH (virus de la inmunodeficiencia humana) es común, pueden causar enfermedades en el hígado con mayor rapidez, por esta causa la HCV es considerada una infección oportunista relacionada con el SIDA.

### Objetivo:

Estudiar la prevalencia de genotipos del HCV y coinfección por VIH en el área sanitario del Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria en el trienio 2009–2011.

### Material y Métodos:

Se estudiaron 428 pacientes infectados por HCV en el trienio 2009-2011 en el HUNSC. Se les determinó el genotipo mediante Versant HCV Genotype Assay (Lipa) 2.0.

La determinación del VIH se realizó por quimioluminiscencia (Architect 2000, Abbott Científica) y la confirmación por inmunoblot (AUTOLIA 48, INNOGENETICS).

### Resultado:

Durante el trienio 2009-2011 se determinaron 428 genotipos de pacientes con HCV, siendo el 30% mujeres (128/428) y 70% hombres (300/428) con una edad media de 46 años.

El genotipo 1 (58%) es el predominante en nuestro estudio: 1a (30%) y el 1b (28%) seguido del 3 (subgenotipo 3a; 25%). El genotipo 4 (4a/4c/4d) es de 7% (32/428) y los demás genotipos 2, 5 y 6 no alcanzan más de un 2% de los 428 genotipos determinados.

El porcentaje de coinfección con VIH es de un 2% (8/428), siendo los genotipos de estos infectados por HVC del tipo 1a (37,5%), 3a (37,5%) y 4 (4a,4c,4d; 25%).

### Conclusión:

Como en otros estudios de otras áreas sanitarias, el genotipo predominante en nuestra área del HUNSC es el 1 (1a y 1b) seguido del 3 (3b).

Los genotipos HCV más frecuentes en la coinfección VIH son el 1 (subtipo 1a) y el 3 (3a), seguido del 4 (4a/4c/4d).

**AVANCES EN LA IDENTIFICACION PRECOZ DE CADENAS DE TRANSMISION DE TUBERCULOSIS**

*Autor/a/s:* Marta Herranz, María Alonso, Miguel Martínez Lirola, Milagros González-Rivera, Emilio Bouza, Dario García De Viedma

*Centro de trabajo:* Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Instituto de investigación sanitaria Gregorio Marañón. Centro de Investigación Biomedica en red enfermedades respiratorias (CIBERES)

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* m\_herranz01@hotmail.com

**Introducción:**

El análisis epidemiológico de la tuberculosis se ha optimizado con la aplicación de técnicas genotípicas, que permiten identificar pacientes infectados por una misma cepa de *Mycobacterium tuberculosis* (cluster), que pertenecen a una misma cadena de transmisión. Las técnicas de genotipado más empleadas son IS6110 RFLP (restriction fragment length polymorphism), método de referencia, y MIRU-VNTR (micobacterial interspersed repetitive unit-VNTR), una nueva técnica rápida basada en PCR y análisis del número de repeticiones en tándem en determinadas dianas (loci) del DNA bacteriano. Estas técnicas requieren ser aplicadas sobre aislados cultivados. Sin embargo, la importancia de detectar cadenas de transmisión con la mayor rapidez posible hace que surja la necesidad de aplicar una técnica de genotipado que pueda ser realizada directamente sobre muestras respiratorias.

**Objetivos:**

1. Optimización de la técnica MIRU-VNTR para realizarla directamente sobre muestras respiratorias. 2. Evaluar la correlación entre los resultados obtenidos sobre muestras respiratorias y aislados cultivados.

*Materiales y métodos:* Se seleccionaron 61 muestras respiratorias de pacientes cuyos aislados cultivados de *Mycobacterium tuberculosis* habían sido genotipados previamente mediante la técnica MIRU-VNTR convencional. Fue requisito que la muestra respiratoria correspondiente estuviera debidamente congelada. Las muestras respiratorias eran baciloscopia positiva de más de 90 bacilos por campo (b/c) (n=30), de 10-90 b/c (n=15), de 1-9 b/c (n=15) y de 1-9b/10 campos (n=5). El DNA se purificó mediante QIAamp DNA mini kit. El estudio de los 24 loci MIRU-VNTR se realizó mediante 8 PCRs triplex y caracterización de los productos de amplificación tras electroforesis capilar y análisis del número de repeticiones con el programa Genemapper V4.0.

**Resultados:**

En 60 de las 61 (98,4%) muestras se logró obtener un genotipo completo. En la muestra restante no se logró la amplificación en uno de los 24 loci analizados. La concordancia del genotipo obtenido directamente de la muestra respiratoria frente al detectado en el aislado cultivado fue de un 100%. Se detectaron 9 clusteres de transmisión con 23 casos implicados.

**Conclusión:**

La aplicación de la técnica MIRU-VNTR directamente sobre muestras clínicas nos permite conocer el genotipo de la cepa, detectar nuevos clusteres y seguir las cadenas de transmisión ya existentes sin la necesidad de cultivar previamente la muestra.

*Financiación:* FIS S09/02205

**SCREENING DDS: MICROORGANISMOS DETECTADOS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA.**

*Autor/a/s:* Simón Pérez Germán Rubén, Cantalejo Gutiérrez Adolfo, Barreiro Castro Belén, Galisteo Escorza Arancha, Blázquez Sánchez Rosa, Pérez Pérez Carolina.

*Centro de trabajo:* Hospital Ntra Sra del Prado

*Provincia:* TALAVERA DE LA REINA- TOLEDO

*Correo electrónico del primer firmante:* gervilanda@hotmail.com

**Introducción:**

La Descontaminación Digestiva Selectiva (DDS) es una estrategia profiláctica cuyo objetivo es reducir la incidencia de infecciones, principalmente la Neumonía asociada a ventilación mecánica, en los pacientes que requieren cuidados intensivos, previniendo y erradicando el estado del portador orofaríngeo y gastrointestinal de microorganismos potencialmente patógenos.

El protocolo de DDS incluye la toma de muestras de vigilancia orofaríngea y rectal en el momento del ingreso, en pacientes que requieren ventilación mecánica más de 48 horas, y posteriormente una vez a la semana.

**Objetivo:**

Determinar los patógenos más frecuentes en la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital Ntra. Sra. Del Prado de Talavera de la Reina (Toledo).

**Metodología:**

Para la elaboración de este estudio se elabora una ficha de recogida de datos que incluye:

-Edad, Sexo, Diagnóstico de ingreso, Nº de muestras de exudados orofaríngeos y rectales.

-Resultado de los Cultivos: Este análisis es realizado en el Laboratorio de Microbiología en base a las muestras recibidas por la UCI.

El período de estudio comprende desde el 1 de Octubre de 2011 al 31 de Diciembre de 2011.

Se incluyen todas las muestras recogidas a pacientes que ingresan en la UCI en este período según protocolo de recogida del centro.

**Resultados:**

De un total de 13 pacientes estudiados, 10 eran hombres y 3 mujeres, con una edad media de 72 años.

Las patologías más frecuentes son: 9 pacientes con patología médica, 2 quirúrgicos y 2 politraumatizados.

Se analizan un total de 52 muestras (una media de 4 muestras por paciente), de los cuales 26 son exudados orofaríngeos y 26 exudados rectales.

Los resultados de los cultivos orofaríngeos son: 17 negativos y 9 positivos. De estos se aíslan los siguientes microorganismos: *Staphylococcus aureus* (5), *Klebsiella Oxitoca* (2), *Klebsiella pneumoniae* (1) y *Staphylococcus coagulasa* negativo (1).

Los resultados de los cultivos rectales son: 13 negativos y 13 positivos. De estos se aíslan los siguientes microorganismos: *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae* (3), *Escherichia coli* (10) *Enterobacter cloacae*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Proteus penneri*, *Enterobacter aerogenes* y *Pseudomonas aeruginosa*. En 5 muestras se aíslan más de 1 microorganismo.

**Conclusiones:**

El resultado de los cultivos ha sido positivo con más frecuencia en los exudados rectales, aislándose más de un microorganismo por muestra.

La identificación precoz de estos microorganismos por el Laboratorio de Microbiología permite la instauración de medidas profilácticas preventivas ante otros pacientes en la Unidad de Cuidados Intensivos, como se da en el caso de los SAAR positivo.

**ETIOLOGIA BACTERIANA DE LAS FARINGOAMIGDALITIS AGUDA. ¿LOS KITS DE DETECCIÓN RÁPIDA SON SUFICIENTES?**

*Autor/a/s:* Cristina Cañellas, Roser Figarola, Encarna Salamanca, Eva González, M<sup>a</sup> Jesús Sancho

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Juan XXIII

*Provincia:* Tarragona

*Correo electrónico del primer firmante:* ccn4024@hotmail.com

**Introducción:**

La faringoamigdalitis aguda (FA) es uno de los motivos más frecuentes de asistencia sanitaria en atención primaria. La mayoría de las veces se trata de un proceso de etiología viral que se autolimita en menos de una semana, y sólo en un pequeño porcentaje de casos su origen es bacteriano afectándose mayoritariamente los niños. La FA plantea problemas de diagnóstico al médico de atención primaria ya que clínicamente es difícil diferenciar la etiología bacteriana de la viral. Dentro del grupo de los estreptococos  $\beta$ -hemolíticos, el *Streptococcus pyogenes* o estreptococo  $\beta$ -hemolítico del Grupo A (EBHGA) es el principal agente causal de las FA de origen bacteriano y para su diagnóstico existen en el mercado kits de detección rápida, aunque el cultivo faríngeo sigue siendo el patrón de oro para su diagnóstico.

**Objetivo:**

Conocer la incidencia de los diferentes grupos de estreptococos  $\beta$ -hemolíticos causantes de FA de origen bacteriano para determinar si los kits de detección rápida son adecuados.

**Material y Método:**

Estudio retrospectivo y descriptivo entre los años 2009/2011 de las muestras faríngeas recibidas del ámbito de atención primaria en el Laboratori Clínic ICS Camp de Tarragona. Se sembraron por la técnica de agotamiento en placas de Agar Sangre, Agar Chocolate incubados en atmósfera aerobia, y en Agar Columbia incubados en atmósfera anaerobia. Tras 24-48 horas de incubación se procedió a partir de las colonias  $\beta$ -hemolíticas al serogrupo con el kit DIAMONDIAL STREP KIT©©. Con este kit se pueden identificar 5 subgrupos diferentes de estreptococo  $\beta$ -hemolítico A, B, C, F, G. Para los grupos C, F y G la identificación definitiva se hizo con la tecnología de espectrometría de masas (MALDI-TOF)

## Resultados:

De las 257 muestras procesadas 180 correspondieron al EBHGA o *S. pyogenes* (70%), 73 a *S. β*-hemolíticos de los grupos C, F y G (28.4%) identificados como *S. anginosus* grup; 16 a *S. β*-hemolíticos del grupo C (6.2%) identificados como *S. dysgalactiae* y 8 a *S. β*-hemolíticos del grupo B (3.1%) o *S. agalactiae*.

## Conclusiones:

El *S. pyogenes* sigue siendo el principal agente causal de las FA aunque el *S. agalactiae*, el *S. dysgalactiae* y el grupo *anginosus* también tienen una significación importante ya que todos juntos forman el 30% de las FA.

Ante estos resultados se debería tener en cuenta que el kit de detección rápida disponible en la mayoría de los centros de atención primaria sólo detecta el subgrupo A por lo que se puede llevar a cabo un error en el diagnóstico confundiendo la etiología viral con la bacteriana ante un test negativo.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 066

### COMPARACIÓN DE MÉTODOS MOLECULARES PARA EL ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A METICILINA (SARM) CAUSANTE DE BACTERIEMIA.

*Autor/a/s:* Caballero Moyano, Francisco Javier; Serrano Rocha, Lara; Díaz De Alba, Paula María; Velasco Ramírez, Carmen.

*Centro de trabajo:* Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina. Universidad de Sevilla

*Provincia:* Sevilla

*Correo electrónico del primer firmante:* caballero\_moyano86@hotmail.com

## Introducción:

*Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (SARM) continúa siendo una importante causa de bacteriemia en hospitales españoles. La adecuada caracterización de la relación clonal de las cepas de SARM causantes de bacteriemia resulta de gran ayuda para identificar la potencial existencia de diseminación local de cepas y establecer medidas de control. En la actualidad existen diversos métodos de tipificación molecular de cepas de *S. aureus* que permiten comprender mejor la clonalidad local y global de este microorganismo.

Objetivo:

El objetivo de este estudio es comparar la utilidad de dos métodos, electroforesis en campo pulsante y spa-typing, en estudio de la epidemiología molecular de SARM.

## Materiales y métodos:

Se determinó el genotipo de todos los aislamientos mediante electroforesis en campo pulsante (ECP). ECP permite obtener un patrón de los fragmentos de restricción generados tras la digestión del ADN cromosómico total mediante utilización de enzimas de restricción de baja frecuencia de corte. Muchos de estos fragmentos son de gran tamaño y no pueden separarse por técnicas de electroforesis convencional, en las que se aplica un campo eléctrico constante, sino que requieren técnicas en las que la orientación del campo eléctrico sea variable. Mediante este procedimiento se consigue dividir el cromosoma bacteriano en patrones sencillos, de 10 a 20 bandas, lo cual facilita la comparación de unos aislados con otros, permitiendo establecer grados de similitud genética entre las bacterias estudiadas. Los patrones electroforéticos se analizaron utilizando el Software Fingerprinting II (Bio-Rad) que permite la construcción de un dendrograma que agrupa aislados relacionados genéticamente. La región hipervariable de la proteína A de *S. aureus* (spa typing) se estudio mediante amplificación por PCR, secuenciación y análisis de las secuencias con el software Ridom StaphType.

## Resultados:

Se estudiaron 98 cepas de SARM procedentes de 10 hospitales andaluces. El 57% de las cepas pertenece al spa t067, 9% t002, 9% t008 y 8% t148. Mediante ECP se identificaron 6 pulsotipos principales denominados A, B, C, D, E y F. Los pulsotipos C, D, E y F incluyeron aislados con spa t067y t002. Los aislados del pulsotipo A presentaron spa t008 y los aislados del pulsotipo B fundamentalmente spa t148.

## Conclusiones:

Existe una buena correlación entre los resultados obtenidos mediante ECP y spa typing. Sin embargo, el ECP tiene mayor poder discriminatorio que spa typing en la identificación de aislados relacionados epidemiológicamente especialmente en áreas en las que existe un tipo de spa predominante.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 067

### DIFERENCIAS EN LA ACTIVIDAD DE DIVERSOS BIOCIDAS FRENTE A CLONES RESISTENTES A CARBAPENEMAS DE ACINETOBACTER BAUMANNII.

*Autor/a/s:* Caballero Moyano, Francisco Javier; Serrano Rocha, Lara; Díaz De Alba, Paula María; Lossa, Marcela; Fernández Cuenca, Felipe.

*Centro de trabajo:* Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina. Universidad de Sevilla

*Provincia:* Sevilla

*Correo electrónico del primer firmante:* caballero\_moyano86@hotmail.com

## Introducción:

*Acinetobacter baumannii* es un patógeno nosocomial con capacidad para adquirir (multi) resistencia a antimicrobianos de forma rápida y diseminarse en el ambiente hospitalario produciendo brotes que son muy difíciles de controlar. La resistencia a carbapenemas en *A. baumannii* se asocia con una mayor capacidad de transmisión o diseminación en el hospital. Se desconoce si la disminución de la sensibilidad a los biocidas usados comúnmente con aplicación antiséptica y/o desinfectante en los hospitales, tiene algún papel en la diseminación de estos clones de *A. baumannii*.

## Objetivos:

Determinar si existen diferencias en cuanto a la sensibilidad a biocidas en clones predominantes de *A. baumannii* resistente a carbapenemas.

## Material y Métodos:

Se estudiaron 49 clones de *A. baumannii* resistentes a Meropenem seleccionados de la colección de aislados clínicos del proyecto español multicéntrico *A. baumannii* -REIPI-GEIH 2010. La relación clonal de los aislados se determinó mediante REP-PCR. Se utilizó como referencia la cepa tipo *A. baumannii* ATCC 19606. Se ensayaron los siguientes biocidas: Lejía doméstica (hipoclorito sódico), Sterillium® (etil sulfato de mecetrónio disuelto en propanol), Etanol al 70%, Clorhexidina digluconato, Cloruro de Benzalconio, Orsan® (povidona yodada), Instrunet® (metasilicato sódico), Irgasán (triclosán) y Virkon® (Monopirosulfato potásico). La actividad antimicrobiana de los biocidas se determinó mediante microdilución en caldo Mueller-Hinton, usando diluciones seriadas de cada biocida. Para cada clon se determinó la dilución máxima inhibitoria (DMI) y la dilución máxima bactericida (DMB).

## Resultados:

Tabla. Distribución de las DMIs.

Biocida	Nº de clones con las siguientes DMIs						
	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Sterillium	0	0	10	37	2	0	0
Orsan	0	0	2	15	32	0	0
Instrunet	1	25	1	22	0	0	0
Lejía doméstica	0	0	0	2	47		
Cloruro de benzalconio	0	0	0	0	15	30	4
Etanol	0	0	0	0	28	17	4
Virkon	0	1	36	12	0	0	0
Triclosán	2	25	7	5	5	2	2
	1/2048	1/4096	1/8192	1/16384	1/32768	1/65536	
Clorhexidina digluconato	6	33	6	3	0	1	

Como se aprecia en la tabla, en los 49 clones de *A. baumannii* se observaron diferencias de 1 ó 2 diluciones en los valores de DMI de los biocidas estudiados, excepto para Instrunet® (hasta 3 diluciones de diferencia), Clorhexidina digluconato (hasta 5 diluciones de diferencia) y Triclosán (hasta 6 diluciones de diferencia). Los valores de DMB coincidieron con los de DMI para la Lejía común, el Virkon® y el Sterillium®. Por el contrario, con los demás biocidas las DMBs fueron inferiores (menor actividad bactericida): Instrunet y Triclosán (47% de los clones), Clorhexidina digluconato (35%), Etanol y el Cloruro de benzalconio (16%) y Orsan® (8%).

## Conclusiones:

de los biocidas evaluados, Triclosán, Clorhexidina e Instrunet son los que presentan 1) una actividad (DMI) más variable y 2) una menor actividad bactericida (DMB) frente a los clones de *A. baumannii* resistentes a Carbapenemas estudiados.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 068

### EVALUACIÓN DE LA REPRODUCIBILIDAD DE LA TÉCNICA DE MICRODILUCIÓN EN CALDO PARA DETERMINACIÓN DE LA DMI (DILUCIÓN MÁXIMA INHIBITORIA) DE ACINETOBACTER BAUMANNII A DIFERENTES BIOCIDAS.

*Autor/a/s:* Caballero Moyano, Francisco Javier; Díaz De Alba, Paula María; Serrano Rocha, Lara; Lossa, Marcela; Fernández Cuenca, Felipe.

*Centro de trabajo:* Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina. Universidad de Sevilla

*Provincia:* Sevilla

**Introducción:**

Acinetobacter baumannii es un patógeno nosocomial que se caracteriza por su facilidad para adquirir resistencia múltiples antimicrobianos de uso terapéutico. Los biocidas son agentes químicos de diversa naturaleza con actividad antimicrobiana. Los biocidas usados normalmente en los hospitales tienen actividad antiséptica y/o desinfectante. La microdilución en caldo es un método estándar para determinación de sensibilidad de las bacterias a los antimicrobianos. Este método se utiliza con frecuencia para determinar también la actividad a biocidas, aunque no existen recomendaciones ni consenso sobre la aplicabilidad de este método en el estudio de biocidas. La microdilución en caldo puede ser muy útil cuando se quiere estudiar, con fines comparativos, el comportamiento bacteriano frente a biocidas (mayor o menor sensibilidad).

**Objetivos:**

Evaluar la reproducibilidad del método de microdilución en caldo con biocidas para aplicar este método al estudio de biocidas en bacterias patógenas nosocomiales con capacidad para producir brotes infecciosos, como ocurre con A. baumannii.

**Materiales y métodos:**

Se analizaron 2 cepas de A. baumannii de referencia (ATCC 19606 y ATCC 17978) y una cepa clínica de A. baumannii Pan-Resistente a antibióticos implicada en un brote hospitalario. Se utilizaron los biocidas en las concentraciones iniciales que se detallan a continuación: Sterilliumâ (mezcla de alcoholes) puro, Orsanâ (solución de yodo) puro, Lejía pura (40 g/l de Cloro activo), Clorhexidina digluconato (dilución 1/64 de un preparado al 4 %), Etanol 70 %, Irgasán (triclosan al 0.003%). El inóculo utilizado fue una dilución 1/100 de una suspensión bacteriana ajustada a 0,5 de la escala de McFarland (equivalente a 1 x 10<sup>8</sup> UFC/ml), en caldo Mueller-Hinton, para cada cepa a estudiar. Las placas de microdilución en caldo se incubaron durante 18-24 horas en estufa a 37 °C. La actividad de cada biocida se determinó calculando la dilución máxima inhibitoria (DMI), que se definió como la dilución de biocida correspondiente al primer pocillo en el que no se haya producido crecimiento bacteriano visible. Para cada cepa se determinó 9 veces la DMI. Los resultados se consideraron reproducibles si las DMIs eran idénticas o se diferenciaban en 1 dilución.

**Resultados:**

Tabla 1: Número de repeticiones de los valores de DMI para cada cepa y Biocida.

A. baumannii	DMIs para los siguientes biocidas																		
	Sterillium						Orsan		Lejía		Clorhexidina			Etanol 70 %			Triclosan		
	1/16	1/32	1/64	1/32	1/64	1/32	1/64	1/4096	1/8132	1/64	1/128	1/256	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	
ATCC 19606	1	6	2	2	7	0	9	8	1	4	5	0	1	0	0	2	3	3	
ATCC 17978	2	2	5	3	6	2	7	4	5	1	5	3	1	2	2	1	2	1	
Pan R	0	5	4	1	8	1	8	3	6	5	4	0	1	1	0	2	5		

**Conclusiones:**

Para Sterillium, Orsan, Lejía, Clorhexidina y Etanol se observa buena reproducibilidad con las 3 cepas estudiadas. En el caso de Triclosan se observa mayor variabilidad entre determinaciones, probablemente debido a inconvenientes que este biocida genera en la lectura por producir precipitados difíciles de interpretar. Consideramos que, excepto para Triclosan, la microdilución en caldo es una técnica útil para estudios comparativos de cepas de A. baumannii, y que las cepas estudiadas funcionan como controles estables.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 076

**TÉCNICA PARA LA CARACTERIZACIÓN DEL TROPISMO DEL VIH-1 EN PACIENTES CON CARGA VIRAL INDETECTABLE**

Autor/a/s: Virginia Sacristán Formariz, María Coronel Díaz, Ester Domínguez García y Carolina Gutierrez Montero

Centro de trabajo: Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Ramón y Cajal.

Provincia: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: Virginia.SacrisFor@gmail.com

**Introducción:**

La aparición de fármacos antagonistas del coreceptor CCR5 en el tratamiento de la infección del Virus de la Inmunodeficiencia Humana de tipo 1 (VIH-1), ha supuesto la necesidad de disponer de ensayos para la determinación del tropismo viral. La primera técnica aceptada y utilizada fue la realización del fenotipo del VIH-1, pero debido a su complejidad y coste se han desarrollado técnicas genotípicas, basadas principalmente en la secuenciación de la tercera región variable (V3) de la envuelta del VIH-1, como alternativa económica, rápida y factible.

Actualmente el problema encontrado en los laboratorios es que llegan muestras de pacientes con carga viral indetectable ( CV<1.7Log ) lo que dificulta la caracterización del tropismo, tanto por métodos fenotípicos como genotípicos, y que hace necesario encontrar una herramienta alternativa.

**Objetivo:**

Evaluar la eficacia de la medición genotípica basada en el ADN Proviral, para la caracterización del tropismo del VIH-1 en pacientes con carga viral indetectable.

**Material y Método:**

Los pacientes fueron reclutados en el Hospital Ramón y Cajal, presentando todos ellos carga viral indetectable. Llevamos a cabo un aislamiento de las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) a partir de sangre total. A partir de 200µl de suspensión celular se realizó una extracción de ADN Proviral (QIAmp DNA Blood Mini Kit, QIAGEN). Posteriormente se llevaron a cabo 2 reacciones de amplificación por PCR convencional, de la región V3 de la envuelta viral, empleando oligonucleótidos específicos. Seguidamente fue sometido a una electroforesis en gel de agarosa y se visualizó por luz ultravioleta. El producto amplificado, correspondiente a la región V3, se secuenció en un secuenciador (ABI PRISM, Genetic Analyze 310 ).

Las secuencias obtenidas fueron editadas (EditSeq) e interpretadas, empleando el algoritmo informático geno2pheno, basado en un método estadístico, de acuerdo a un porcentaje de FRP ( False Rate Positive) de 10% .

**Resultados:**

Se incluyeron un total de 86 pacientes: en 60 (69,8%) llevamos a cabo la determinación del tropismo del VIH a partir de ARN viral y en 26 (30,2%) a partir de ADN Proviral.

Globalmente un total de 69.7% de los pacientes presentaron tropismo R5, un 17,4% tropismo dual/mixto y un 12.7% no interpretable.

Observamos una mayor proporción de pacientes con tropismo R5 comparado con dual/mixto, tanto en las determinaciones en ARN como en ADN Proviral.

No observamos diferencias significativas en la estimación para predecir el uso del coreceptor CCR5 usando ADN Proviral o ARN ( p=0.1).

**Conclusiones:**

La caracterización del tropismo del VIH-1 a partir de ADN Proviral, se presenta como una técnica útil en la práctica clínica en aquellos pacientes con carga viral indetectable, y puede plantearse como una herramienta alternativa por su facilidad para llevarla a cabo y sus costes económicos en los laboratorios de rutina.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 077

**TÉCNICA PARA CUANTIFICAR EL RESERVORIO LATENTE EN CÉLULAS TCD4 MEMORIA EN PACIENTES INFECTADOS CON EL VIH-1**

Autor/a/s: María Coronel Díaz, Ester Domínguez García, Virginia Sacristán Formariz y Carolina Gutierrez Montero

Centro de trabajo: Hospital Universitario Ramón y Cajal

Provincia: MADRID

Correo electrónico del primer firmante: mariacordiaz@hotmail.com

**Introducción:**

La terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA) en pacientes con infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana de Tipo 1 ( VIH-1 ), permite la reducción de la viremia plasmática a niveles de indetectabilidad con las técnicas disponibles. El desarrollo de nuevas técnicas ultrasensibles, cuyo límite de detección alcanza hasta 1 copia de ARN/ml, ha demostrado que se sigue detectando replicación viral por debajo del umbral de 50 copias/ml. A su vez se conoce que el VIH-1 puede permanecer de forma "latente" en reservorios celulares sobre los cuales el TARGA no actúa, lo que constituye una barrera importante para la erradicación del VIH.

En la actualidad se cree que es una pequeña proporción de células T CD4+ memoria, la que representa el reservorio más importante del VIH desde el punto de vista clínico.

**Objetivo:**

Puesta a punto de una técnica para detectar y cuantificar la proporción de células T CD4+ memoria en las que el VIH-1 puede establecer latencia.

**Material y Método:**

Los pacientes se reclutaron en el Hospital Ramón y Cajal presentando todos ellos carga viral indetectable.

De cada paciente se extrajo un total de 300ml de sangre total en tubos de Heparina de litio. Posteriormente aislamos las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) mediante un gradiente de densidad (Ficoll). A continuación se realizó una separación de las células TCD4 memoria en las que se establece latencia viral [CD4+ HLA-DR(-) / CD25(-)] mediante marcaje y columnas de separación (Magnetic Beads, MACS® Technologies

Miltenyi Biotec, S.L.).

Las células se pusieron en co-cultivo a diferentes diluciones con CMSP de donantes sano, irradiadas, estimuladas con Fitohematoglutina (PHA) e Interleuquina-2 (IL-2). Semanalmente se añadieron CMSP nuevas al cultivo. Para comprobar la presencia de replicación vírica tras la estimulación llevada a cabo previamente, se realizó una medición a día 15 y 21 del antígeno p24 en los sobrenadantes recogidos del co-cultivo. Los resultados se expresaron en Unidades Infeccivas Por Millón (UIPM).

#### Resultados:

La puesta a punto y cuantificación del reservorio latente en células T CD4 memoria se llevó a cabo en el seno de dos ensayos clínicos de intensificación del TARGA con Maraviroc (MVC) y Raltegravir (RAL). Se incluyeron un total de 18 pacientes (MVC, N=9; RAL, N=9), pudiendo ser evaluados hasta el final del estudio (48 semanas con MVC y RAL) 16 pacientes totales. Encontramos una reducción, aunque no significativa, en el tamaño del reservorio de células T CD4 tras la intensificación con MVC ( $p=0.068$ ) y una reducción significativa tras la intensificación con RAL ( $p=0.021$ ).

#### Conclusiones:

Dentro de los ensayos clínicos llevados a cabo se consiguió satisfactoriamente poner a punto la técnica de cuantificación del reservorio latente en células TCD4 memoria. Sin embargo, es una técnica compleja, laboriosa y altamente costosa, por lo que creemos que solo debería contemplarse en el seno de ensayos y/o proyectos de investigación, pero no en la práctica clínico asistencial.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 078**

### ¿SIGUE SIENDO LA TINCIÓN DE GRAM EL “GOLD STANDART” EN EL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LA VAGINOSIS BACTERIANA ?

*Autor/a/s:* Cristina Cañellas Nieto, Beatriz Nadal Mendez, Carmen Fuentes Ramos, Encarna Salamanca Cuadrado, M Jesus Sancho Vilellas

*Centro de trabajo:* LABORATORI CLINIC ICS CAMP DE TARRAGONA

*Provincia:* tarragona

*Correo electrónico del primer firmante:* ccn4024@hotmail.com

#### Introducción:

En la vaginosis bacteriana (VB) se observa un desequilibrio de la microbiota vaginal normal. El género mayoritario *Lactobacillus* sp, es reemplazado por otras que generalmente se encuentra en una menor concentración, como la *Gardnerella vaginalis* y otras bacterias anaerobias.

El diagnóstico de la VB se obtiene mediante el estudio clínico y de las características del flujo vaginal. Puede confirmarse, entre otros, mediante criterios microbiológicos como la tinción de gram, al acceso de todos los laboratorios, rápida y fácil. Algunas veces, nos encontramos con la controversia de que lo que se observa en la placas de cultivo no se corresponde con lo que se observa en la tinción de gram. Uno de los motivos de esta problemática podría ser la recepción de un único escobillón para el sembrado de muestras previo a la tinción de gram. Además la identificación de *G.vaginalis* por pruebas bioquímicas es un proceso largo y tedioso en comparación con la espectrometría de masas (MALDI-TOF).

#### Objetivo:

Valorar la sensibilidad del diagnóstico presuntivo microbiológico mediante tinción de gram en relación con la determinación por espectrometría de masas.

#### Material y Métodos:

Estudio retrospectivo de los años 2009-2011 en el que se revisaron un total de 182 muestras vaginales. Se cultivaron en medios de cultivo enriquecidos y selectivos, y se les realizó una tinción de gram. En abril de 2010 se introdujo en nuestro laboratorio la tecnología de la espectrometría de masas (MALDI-TOF) que se utilizó para identificar colonias con morfología compatible con *G. vaginalis* a partir de dicho momento.

#### Resultados:

En el periodo estudiado, por tinción de gram se observó disbacteriosis en 34 muestras durante el 2009, en 36 durante el 2010 y en 21 durante el 2011, lo que hace una media anual de 30.3 muestras/año frente a 91 muestras que en el 2011 se pudo identificar la presencia de *G. vaginalis* por tecnología MALDI-TOF.

Del estudio comparativo por edades las más afectadas fueron: por tinción de gram en el 2009: 6 casos entre 21 y 30 años, y 8 casos entre 31 y 40 años, en el 2010: 11 casos entre los 21 y 30 años, y 14 entre los 31 y 40 años, y en el 2011: 14 casos entre los 21 y 30 años y 3 casos entre los 31 y 40 años y mediante espectrometría de masas (identificación de *G.vaginalis*) las edades más afectadas fueron: 36 casos entre 21 y 30 años, y 29 entre 31 y 40 años.

#### Conclusiones:

Gracias a la implantación de la espectrometría de masas se ha podido informar en un mayor número de muestras la presencia de *G. vaginalis*, por lo tanto se constata que la recepción de un único escobillón y/o la recogida insuficiente de la muestra además de la dificultad de la identificación convencional podría afectar en la obtención de un diagnóstico microbiológico presuntivo correcto de VB. Por ambos métodos se observó que el grupo de edad más afectado, como era de esperar, eran mujeres entre 20 y 40 años.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 083**

### DETECCIÓN DE CRYPTOSPORIDIUM SPP. EN HECE Y TINCIONES ÁCIDO-ALCOHOL RESISTENTES

*Autor/a/s:* María Teresa González-García, Margarita Gómez-Fontanil, Noelia Bernal-Pérez, Vanesa Rodríguez-García, Eva Piloñeta-González, Montserrat Fernández-Alvarez, Lucía Sanjurjo-Abad, Caridad Huerta-Campomanes, María Rosario Fernández Campomanes.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL V. ÁLVAREZ BUYLLA

*Provincia:* ASTURIAS

*Correo electrónico del primer firmante:* teretgg@gmail.com

#### Introducción:

*Cryptosporidium* spp. es un coccidio entérico, que puede originar diarrea en humanos inmunodeprimidos e inmunocompetentes. Se transmite por vía fecal-oral, tras la ingesta de oocistos excretados en heces de animales o humanos. Los casos pueden ser esporádicos o en brotes epidémicos de transmisión hídrica. *Cryptosporidium* spp. no se tiñe con lugol, precisando métodos de detección específicos: inmunoensayos, biología molecular o tinciones ácido-alcohol resistentes (modificada con sulfúrico, inmunofluorescente, etc).

#### Objetivos:

Los objetivos de este trabajo fueron: 1) Estudiar la presencia de *Cryptosporidium* spp. en las muestras de heces recibidas para estudio parasitológico en nuestra Área Sanitaria. 2) Establecer si la tinción de Auramina es de mayor utilidad que la de Ziehl-Neelsen modificada para detección de *Cryptosporidium* spp en heces.

#### Material y Métodos:

durante 1 mes y de forma prospectiva, se procedió a aplicar un protocolo de detección de *Cryptosporidium* spp. en las muestras de heces recibidas para estudio parasitológico. Se realizó análisis microscópico de materia fecal, previamente conservada con SAF (ácido acético, formol y acetato sódico) y concentrada por centrifugación-sedimentación. Se efectuaron 2 tipos de tinciones ácido-alcohol resistentes: a) tinción fluorescente Auramina (usando HCl como decolorante) y, en los casos en que la auramina fue compatible con *Cryptosporidium* spp., se confirmó con tinción Ziehl-Neelsen modificada (usando como decolorante H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 5%).

#### Resultados:

se estudiaron 78 muestras de heces, pertenecientes a 45 pacientes (9 pediátricos y 36 adultos). En todas las muestras se realizaron extensiones y tinción de Auramina, detectándose en 11 casos formas compatibles con *Cryptosporidium* spp. En estas muestras, se realizó tinción Ziehl-Neelsen modificada, confirmándose *Cryptosporidium* spp en 4 muestras (5,13%) pertenecientes a 3 pacientes (6,67%); 2 pacientes eran adultos inmunodeprimidos (un trasplantado de médula ósea y una infección VIH) y la tercera era una paciente pediátrica inmunocompetente. Todos los casos confirmados se correspondían con muestras de heces blandas-líquidas.

#### Conclusiones:

1) Se debe recordar la necesidad de petición específica y de estudiar de forma rutinaria la presencia de *Cryptosporidium* spp. en todos los pacientes inmunodeprimidos. 2) Se debe estudiar la presencia de *Cryptosporidium* spp. en heces blandas-líquidas de pacientes pediátricos en los que no se detecta otro parásito. 3) La tinción de Auramina resultó ser más sensible, pero menos específica que la de Ziehl-Neelsen modificada, por lo que resultaría útil como cribado. 4) Esta proporción de parásitos detectada en el período estudiado, nos hace pensar que en nuestro medio el *Cryptosporidium* spp. es más habitual de lo esperado.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 085**

### DETECCION DE LEVADURAS EN URIANALISIS MANUAL Y AUTOMATIZADO

*Autor/a/s:* DOMINGUEZ LOPEZ M<sup>ª</sup>TERESA;DE LA TORRE NAVARRETE JOSE;DIAZ ZAYAS M<sup>ª</sup>DOLORES;GUERRERO CASASOLA AMALIA SANDRA ;PRO JIMENEZ M<sup>ª</sup>JESUS

*Centro de trabajo:* HC AXARQUIA

*Provincia:* MALAGA

*Correo electrónico del primer firmante:* dominguezmaite@hotmail.com

## Introducción:

El sedimento automatizado permite identificar y cuantificar un gran número de elementos presentes en la orina y existe consenso en que se correlacionan bien con los métodos manuales; aunque se recomienda que se sigan haciendo análisis comparativos que permitan establecer los puntos de corte adecuados.

## Objetivo:

El objetivo del estudio consiste en comparar los resultados obtenidos entre los recuentos positivos de levaduras con el analizador automático y con la técnica manual de obtención de sedimento urinario mediante centrifugación y tinción por la técnica de Gram y lectura al microscopio óptico, y detectar posibles interferencias en el método automatizado.

## Material y Método:

hemos realizado la lectura automatizada del sedimento con el analizador UF-1000 SYSMEX mediante citometría de flujo y la lectura manual con microscopio óptico a 40X previa tinción de Gram del sedimento obtenido por centrifugación (1500 rpm 5min).

Se procesaron 78 muestras con recuento positivo de levaduras  $\geq 10.3/\text{ul}$  según el método automatizado, obtenidas de muestras enviadas al hospital de forma continuada durante un mes.

## Resultados:

Hemos obtenido 78 muestras con alarmas de levaduras positivas en el UF-1000 de las cuales sólo 14 (18%) presentaron al microscopio al menos 1 levadura/campo. El 86% (12 de los recuentos) tenían una lectura  $\geq 32,5$  levaduras/ul y sólo dos recuentos (14%) eran inferiores a 32,5 levaduras/ul.

De los 78 recuentos automáticos 14 presentaron recuento manual positivo (18%) y en los 64 restantes (82%) sólo se visualizaron levaduras al microscopio en el sedimento manual y se clasificaron diferentes tipos de interferencias: 22 muestras (34%) presentaron agregados bacterianos, 16 (25%) células de descamación, 6 (9%) distintos tipos de restos celulares, 25 (39%) leucocitos, 1 (2%) hematíes y 18 (28%) presentaron bacterias.

## Conclusiones:

-Sólo el 18% de las muestras presentaban levaduras positivas tanto por el método automatizado como por el manual, y el 82% presentaban recuento automatizado positivo

-Las interferencias encontradas se correspondían en primer lugar a leucocitos (39%), seguido de agregados bacterianos (34%) y finalmente bacterias (28%).

Concluimos con este estudio, que a partir de 25,6 levaduras/ul es significativo como método de screening para la visualización del sedimento en fresco detectando la presencia de levaduras.

Los métodos automatizados abren nuevas oportunidades de mejora en la estandarización del análisis de orina, confieren ventajas sobre el método tradicional y pueden ayudar, siendo una importante herramienta de estandarización.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 099**

## DESCRIPCIÓN DE UN NUEVO MÉTODO PARA LA DETECCIÓN DEL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN NF-KB

*Autor/a/s:* Ester Domínguez García, Virginia Sacristán Formariz, María Coronel Díaz, Nadia Madrid Elena

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Ramón y Cajal (Madrid).

*Provincia:* MADRID

*Correo electrónico del primer firmante:* ester.dominguez@gmail.com

## Introducción:

Uno de los aspectos fundamentales de las vías de señalización intracelular es su capacidad de control de la expresión génica mediante los factores de transcripción. Históricamente, los métodos más usados para la identificación de estos factores de transcripción eran ensayos de retardo en gel (en inglés EMSA, Electrophoretic Mobility Shift Assay), Western Blot y ensayos de transfección transitoria de genes reporteros. En general, son técnicas complejas y de larga duración. En el caso del EMSA, además se requiere el manejo de radioactividad. Recientemente, se ha comercializado el kit TransAM™ para medir factores de transcripción, basado en el formato y fundamentos del ensayo ELISA. Esta técnica es más rápida, permite analizar simultáneamente múltiples muestras y no es necesario el uso de radioactividad.

## Objetivo:

Evaluar la aplicación de un kit comercial TransAM™ para medir NF-kB, uno de los factores de transcripción implicado en el control de la replicación del virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (VIH-1).

## Material y Método:

A partir de muestras de 9 pacientes, incluidos en un proyecto de investigación de reactivación de la latencia del VIH-1, se aislaron y guardaron en dos alícuotas las células

mononucleares de sangre periférica. Para medir la actividad del factor de transcripción NF-kB, se hizo una extracción proteica. De las dos alícuotas disponibles, una se usó para la extracción de proteínas totales mediante el uso del tampón de lisis RIPA y su posterior análisis por Western Blot; de la otra alícuota, se realizó una extracción de las proteínas nucleares empleando el kit recomendado por el fabricante (Nuclear Extract Kit, Active Motif, Carlsbad, CA, USA), para después medir la actividad de NF-kB con el kit TransAM™ NF-kB p65 transcription factor assay (Active Motif). Este kit consta de una placa de 96 pocillos, con oligonucleótidos fijados incluyendo el sitio consenso de unión para el NF-kB, en lugar de anticuerpos o antígenos como en un ELISA clásico. Posteriormente se añade un anticuerpo primario que reconoce la subunidad p65 del NF-kB, que solo es accesible cuando está activado y fijado al ADN. El revelado se efectúa como en un ELISA clásico. Tras parar la reacción, se lee la densidad óptica mediante espectrofotometría. Cada muestra se analizó por duplicado tanto en el caso del Western Blot como en el kit de medición de NF-kB.

## Resultados:

Mediante el ensayo de Bradford (técnica habitual de cuantificación de proteínas) no se consiguió determinar la concentración de las proteínas nucleares, por lo que se decidió usar el kit de cuantificación de proteínas ProStain™ Protein Quantification (Active Motif), por tener mayor sensibilidad. Debido al escaso número de células del que se disponía, principal factor limitante, no se consiguió detectar el NF-kB por Western Blot. Por el contrario, con el kit TransAM™ se detectó actividad de NF-kB en seis de los nueve pacientes. El kit de detección de NF-kB incluye dos controles positivos de especificidad, en uno de ellos un oligonucleótido salvaje compite, de manera dosis dependiente, con el NF-kB presente. En el otro, se incluye un oligonucleótido mutado que no compite con el NF-kB. Todos los duplicados mostraron elevada concordancia.

## Conclusiones:

El kit TransAM™ NF-kB p65 transcription factor assay permite la detección simultánea de varias muestras de forma reproducible en menos de 5 horas. Dos ventajas adicionales son la alta sensibilidad y el no tener que manipular radiactividad.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 103**

## ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD A NORFLOXACINO EN AISLAMIENTOS INVASIVOS DE STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

*Autor/a/s:* Gandia Gonzalez Maria Aranzazu, Vázquez Barba Isabel Dolores, Lepe Jimenez Jose Antonio.

*Centro de trabajo:* H.U. Virgen del Rocío

*Provincia:* Sevilla

*Correo electrónico del primer firmante:* agandia21@hotmail.com

## Introducción:

El despistaje de la sensibilidad disminuida a quinolonas puede realizarse en base a su sensibilidad a norfloxacin. EUCAST propone que los aislados categorizados como sensibles a este pueden ser informados como sensibles a levofloxacin y en los resistentes se realizan el estudio de sensibilidad. El objetivo de este trabajo fue evaluar la correlación entre los resultados de obtenidos en Streptococcus pneumoniae con norfloxacin y los valores de CMI de levofloxacin.

## Material y Métodos:

Cepas: el estudio incluyó 87 cepas de Streptococcus pneumoniae aislados de casos de hemocultivos y/ o LCR.

Estudio de sensibilidad:

-norfloxacin: se realizó mediante metodología EUCAST, empleando discos de 10 mcg y placas de Mueller-Hinton 5% de sangre de carnero. Se consideraron sensibles aquellos aislamientos con halos de inhibición  $\geq 12$  mm.

-levofloxacin: se realizó mediante metodología E-test (bioMérieux) en placas de Mueller-Hinton 5% sangre de carnero. Se consideraron sensibles aquellos aislamientos con CMI  $\leq 2$  mg/L.

La incubación en ambos casos realizó a 37°C en atmósfera de CO<sub>2</sub>.

Estudio estadístico: comparación de medianas (CMI50) mediante la prueba de Mann-Whitney.

## Resultados:

:Norfloxacin: Resistentes (<12 mm)=8 aislamientos (9,2%); Sensibles (>12 mm)=79 cepas (90,8%).

Levofloxacin: CMI50= 0,5 mg/L; CMI90= 1 mg/L (100% de sensibilidad); grupo sensible a norfloxacin: CMI50: 0,5 mg/L (rango: 0,25-1 mg/L); grupo resistente a norfloxacin: CMI50: 1 mg/L (rango: 0,5-2 mg/L).

El análisis estadístico concluyó que existen diferencias significativas de los valores de CMI a levofloxacin entre los grupos sensible y resistente a norfloxacin ( $p=0,0012$ ).

## Conclusión:

El estudio de la sensibilidad norfloxacino mediante disco-placa, puede constituir un método efectivo y económico de estudiar la sensibilidad a quinolonas en aislados invasivos de *Streptococcus pneumoniae*

Los aislados resistentes a Norfloxacino tienen CMI a Levofloxacino más alta que los sensibles, y podría deberse a mutaciones de primer paso o bombas de expulsión de quinolonas que pueden estar presentes en aislamientos sensibles a levofloxacino, aunque no afecten a su categoría clínica. En base a los resultados se constata que los aislados resistentes a norfloxacino tienen CMI a levofloxacino más alta que los sensibles.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 112**

### DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE URETRITIS EN HOMBRES CON PCR MULTIPLEX.

*Autor/a/s:* Rosa Sánchez Úbeda, Conxita Berrar Colmenero, Judith Lucena Nemirosky, Josefa Pérez Jove, María Simó Sanahuja. Josep Lite Lite

*Centro de trabajo:* Catlab

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* (rosasanchez651@hotmail.com)

#### Introducción:

En la última década se ha observado un aumento en la frecuencia de las infecciones de transmisión sexual (ITS) atribuible a diversos factores como los cambios en los hábitos sexuales de la población. La uretritis es un síndrome caracterizado por la aparición de exudado uretral mucopurulento, disuria o prurito en el meato urinario. Se clasifica en Uretritis Gonocócica (UG) y Uretritis No Gonocócicas (UNG) (*Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum* son los microorganismos más frecuentemente hallados en esta última). La dificultad en cultivar algunos de estos microorganismos y la posibilidad de detectar coinfecciones motivaron, hace tres años, la incorporación de una PCR múltiple en el área de ITS de nuestro laboratorio.

#### Objetivos:

- La detección de microorganismos causantes de uretritis en hombres en nuestro medio.
- Detectar la presencia de coinfecciones.

#### Material y Métodos:

Durante el año 2011 se estudiaron 412 muestras de exudado uretral de varones con diagnóstico de uretritis. Se realizó extracción automatizada de las muestras con el sistema QUIACUBE, QUIAGENR, una PCR multiplex, Seeplex STD6 ACE (Segeene) y posterior detección con electroforesis capilar de los siguientes microorganismos: *Ureaplasma urealyticum* (UU), *Mycoplasma hominis* (MH), *Chlamydia trachomatis* (CT), *Neisseria gonorrhoeae* (NG), *Trichomonas vaginalis* (TV) y *Mycoplasma genitalium* (MG).

#### Resultados:

De las 412 muestras resultaron positivas 192 (46,6%). CT se detectó en 64/412 (15,5%), NG 51/412 (12,3%), UU 49/412 (11,8%), MH 16/412 (3,8%), MG 10/412 (2,4%), TV 2/412 (0,4%). La infección simple se observó en 123/192 (64%) la coinfección en 69/192 (36%). Las coinfecciones más frecuentes: CT+NG 13/69 (19%), UU+MH 9/69 (13%).

#### Conclusiones:

Es aconsejable aplicar técnicas moleculares para el diagnóstico etiológico de la uretritis. Las PCR's de plataforma múltiple son útiles, nos ayudan a conocer las coinfecciones y establecer un tratamiento dirigido pero deberían ser más económicas para extender su utilización.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 114**

### UTILIDAD DE LA PRUEBA HEXAGON CHAGAS PARA CONFIRMACIÓN DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE A LA ENFERMEDAD DE CHAGAS.

*Autor/a/s:* Pérez Pinar, Carmen; Liñán Centeno, Remedios; Toro Barnés, María Dolores; Espigares Gallardo, María Ángeles

*Centro de trabajo:* HOSPITAL CLINICO SAN CECILIO

*Provincia:* Granada

*Correo electrónico del primer firmante:* yomellamocarmen@gmail.com

#### Introducción:

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana afecta a unos 18 millones de personas en el mundo, causando alrededor de 50.000 muertes al año, especialmente en América Latina. La legislación actual en nuestro país exige realizar dos determinaciones distintas para detectar los casos positivos.

#### Objetivos:

Evaluar la técnica de inmunocromatografía Hexagon Chagas para la confirmación de los casos positivos de anticuerpos frente a enfermedad de Chagas detectados en nuestro servicio mediante la tecnología MEIA Architect Chagas.

#### Material y Métodos:

Se utilizaron 50 casos positivos frente a anticuerpos de Chagas detectados en nuestro servicio durante el año 2011 por la técnica Architect Chagas, a los que se realizó la técnica Hexagon Chagas para su confirmación.

#### Resultados:

Se obtuvo un resultado positivo mediante la técnica Hexagon Chagas en 49 de los 50 pacientes estudiados, lo que supone una sensibilidad del 98% si se utiliza la técnica Architect como referencia. Al caso discordante se le realizó una inmunofluorescencia, obteniéndose un resultado indeterminado (positivo a título bajo).

#### Conclusiones:

Debido a su facilidad y rapidez de uso la técnica Hexagon Chagas se presenta como una buena alternativa para realizar la segunda determinación que la legislación vigente exige en casos de positividad a anticuerpos de tripanosomiasis, al tener una sensibilidad muy elevada.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 119**

### ESTUDIO COMPARATIVO DE INMUNOCROMATOGRAFÍAS DE TOXINA CLOSTRIDIUM DIFFICILE

*Autor/a/s:* MARÍA DOMINGUEZ BERNARDINA; SALVADOR LORENZO MARÍA JOSE; GONZALEZ GONZALEZ M<sup>a</sup> ELVA; CUADRADO BENITO M<sup>a</sup> TERESA

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA

*Provincia:* SALAMANCA

*Correo electrónico del primer firmante:* bmariadominguez@yahoo.es

#### Introducción:

*Clostridium difficile* es causa de primer orden de diarrea nosocomial en países desarrollados, sólo los aislamientos toxigénicos pueden causar enfermedad debido a la producción de Toxinas A y/o B. Con mayor frecuencia aparece en pacientes de edad avanzada, con comorbilidades o en aquellos cuya flora intestinal ha sido alterada por el uso de antibióticos. La incidencia y severidad de estos cuadros han ido en aumento en los últimos años; por lo que un diagnóstico rápido y adecuado es esencial para el buen manejo del paciente pero también para prevenir la transmisión nosocomial.

#### Objetivo:

El objetivo de nuestro trabajo es comparar la eficacia obtenida tras el cambio de método diagnóstico, pasando de la inmunocromatografía de XpecT A/B de Remel® a la inmunocromatografía C Diff Quick Chek Complete® de Alere.

#### Material y Métodos:

Se han estudiado un total de 428 muestras de heces, procedentes, tanto del medio hospitalario como de la comunidad. El periodo del estudio fue un total de 6 meses (1 de Marzo-31 de Agosto del 2011). A todas las muestras se les realizaron las dos pruebas la inmunocromatografía de XpecT A/B de Remel® a la inmunocromatografía C Diff Quick Chek Complete® de Alere y observamos los resultados. Las muestras con resultados discordantes por la prueba de C Diff Quick Chek Complete® (Ag(-)/Tox(+)) se sembraron en el medio específico para *Clostridium difficile* y se repitió la determinación a partir de colonia para poder decidir si se daban como positivas o negativas.

#### Resultados:

	POSITIVAS	NEGATIVAS	DISCORDANTES	TOTAL
REMEL®	2	426	428	
ALERE®	16	385	27	428

Del total de las 428 muestras, dos resultaron positivas por la técnica XpecT A/B, y 16 muestras por la técnica de C Diff Quick Check Complete. Los resultados discordantes fueron 27 muestras de las cuales tras sembrarlas todas 13 fueron negativas, 12 positivas y en dos casos no se obtuvo crecimiento.

#### CONCLUSIONES:

De los resultados obtenidos podemos deducir que considerando solo los positivos concluyentes según el fabricante C Diff Quick Chek Complete® (GDH + y Toxina B +) la sensibilidad respecto a la técnica anterior mejoró 8 veces. Hacen falta estudios posteriores para argumentar esta diferencia, pero pudiera ser un límite de detección más bajo para la Toxina B. También podemos concluir que el cultivo es más sensible que las inmunocromatografías tal como demuestran los resultados obtenidos ya que se recuperaron 12 muestras más como positivas.

**CASOS DE BRUCELOSIS EN MUESTRAS SEROLÓGICAS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE MÁLAGA**

*Autor/a/s:* RAFAELA BARRANCO TORRES, ANTONIA MARIA MUÑOZ PRAENA, ÁNGELA MARÍA GUERRERO CRESPILO, ENCARNACIÓN CLAVIJO FRUTOS, M<sup>a</sup> PAZ RODRÍGUEZ ALONSO Y FRANCISCA TORRES CARRILLO.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LA VICTORIA

*Provincia:* (MÁLAGA)

*Correo electrónico del primer firmante:* rafibarr@hotmail.com

**Introducción:**

La Brucelosis es una zoonosis de distribución mundial producida por distintas especies del género *Brucella* que tuvo gran importancia en nuestro medio hasta hace pocos años. Se transmite por contacto directo con un animal infectado, fluidos animales (ovejas y vacas), por inhalación de aerosoles o la ingestión de productos lácteos contaminados. Esta enfermedad no produce sintomatología clínica patognomónica, por lo que el diagnóstico debe ser siempre confirmado por técnicas microbiológicas. Se puede considerar una enfermedad profesional.

**Objetivos:**

Conocer la incidencia de Brucelosis aguda detectada en nuestro Laboratorio durante el año 2011. En los casos positivos recogimos edad y sexo, y comparamos las pruebas Serológicas positivas con los Hemocultivos positivos.

**Material y Métodos:**

Recogimos todas las muestras enviadas al servicio de Microbiología con sospecha de Brucelosis. A todos los pacientes se les realizó la prueba Rosa de Bengala, la Seroaglutinación, el Test de Inmuncapturas en sueros y el Hemocultivo. La prueba Rosa de Bengala la consideramos positiva a título superior 1/160 y Test de Inmuncapturas positivo a título superior 1/320.

**Resultados:**

Durante el año 2011 se han evaluado en nuestro Laboratorio 950 muestras a las que se les realizó el Rosa de Bengala y la Seroaglutinación, y a 258 muestras el Test de Inmuncaptura. Los resultados positivos fueron: Rosa de Bengala 10 muestras (0,95%), Seroaglutinación 9 muestras (0,94%) Y Test de Inmuncaptura 6 muestras (2,3 %).

A las 10 muestras positivas con Rosa de Bengala comprobamos que les solicitaron hemocultivos, de los cuales 2 dieron positivos. Se trataron de 3 hombres y 7 mujeres con edades comprendidas entre 19 y 49 años (media 34 años). Al comparar si a los test serológicos también les solicitaron hemocultivos, comprobamos que a un elevado número se les solicitó, siendo éstos negativos, pues eran enfermos con síndrome febril procedentes de ambulatorio.

**Conclusiones:**

En el período de estudio evaluado encontramos 10 casos de Brucelosis, de los cuales en 2 casos fue positivo el Rosa de Bengala, la Seroaglutinación, el test de Inmuncaptura y el Hemocultivo. Existe una baja incidencia de muestras de Hemocultivos y pruebas serológicas, lo que supone una mejora en la higiene y seguridad en el trabajo, así como en las medidas de salud pública. No debemos olvidar que la Brucela continúa siendo un agente causal de enfermedad.

**ETIOLOGÍA DE LAS BACTERIEMIAS EN MÁLAGA**

*Autor/a/s:* ÁNGELA MARÍA GUERRERO CRESPILO, ANTONIA MARÍA MUÑOZ PRAENA, RAFAELA BARRANCO TORRES, M<sup>a</sup> VICTORIA GARCÍA LÓPEZ, M<sup>a</sup> PAZ RODRÍGUEZ ALONSO.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LA VICTORIA

*Provincia:* MÁLAGA

*Correo electrónico del primer firmante:* angelaguecres@hotmail.com

**Introducción:**

La bacteriemia es la presencia de bacterias en la sangre que se pone de manifiesto por el aislamiento de éstas en los hemocultivos. Es una complicación grave de las infecciones bacterianas, con importantes implicaciones pronósticas y aporta una valiosa información a la hora de elegir un tratamiento antimicrobiano adecuado, sobre todo en pacientes hospitalizados. La distribución de los agentes causales ha variado en los últimos años y actualmente los microorganismos Gram positivos, especialmente estafilococos y enterococcus, igualan o superan en frecuencia a los Bacilos gram negativos (BGN).

El hemocultivo tiene una importancia en el diagnóstico de las bacteriemias, el adecuado

procesamiento de los hemocultivos debe ser una de las funciones más importantes del Laboratorio de Microbiología Clínica.

**Objetivos:**

Conocer la etiología de las bacteriemias más frecuentes en Málaga.

**Material y Métodos:**

Hemos estudiado las bacteriemias desde Marzo-Diciembre de 2011. Las botellas son introducidas en el BacT /ALERT 3D (bioMérieux®) con un período de incubación de 5 días, a todos los positivos se le realiza la siembra según protocolo habitual de la sección de Hemocultivos. Para la identificación-sensibilidad usamos el sistema automatizado Walk-Away (Siemens®), la identificación de *Streptococcus* spp con el sistema API (bioMérieux®) y antibiograma manual en Müeller Hinton Sangre. Para levaduras el sistema Vitek (bioMérieux®) y el estudio de sensibilidad con el método comercial SENSITRE YeastOne®.

**Resultados:**

Durante el periodo de estudio han llegado al Laboratorio un total de 7.712 muestras, que corresponden a 4.129 pacientes, en el 60% fueron varones, con una edad media de 63 años (0-98), siendo el (26.5%) positivas y el (73.5%) negativas. El 40% de las muestras procedían de Urgencias seguidas de UCI, de Medicina Interna y de Oncohematología, con un 18.4%, 13% y 10.1% respectivamente. Los microorganismos más frecuentes aislados fueron los cocos gram positivos (CGP) en el 15% de los casos (*S. epidermidis* el más frecuente (5,9%), seguido de *S. hominis* (2,3%) y *S. aureus* (1%). En segundo lugar los BGN el 7%, el más frecuente fue *E. coli* (3,4%), seguido de Cocos en cadenas en el (2.1%), (*Streptococcus* grupo viridans (0.7%) fue el más frecuente seguido de *Enterococcus faecalis* (0.6%) y *Streptococcus pneumoniae* (0.3%). Las levaduras solo se aislaron en el (0.7%) y el (0.2%) correspondió a microorganismos anaerobios.

**Conclusiones:**

1. La mayoría de las bacteriemias en nuestro medio se producen en varones, con una edad media de 63 años y procedentes del servicio de Urgencias.
2. El microorganismo aislado más frecuente es el *Stafilococcus epidermidis* seguido de *E. coli*.

**DETERMINACIÓN DE LOS GENOTIPOS DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B EN EL HOSPITAL VIRGEN DE LA VICTORIA DE MÁLAGA**

*Autor/a/s:* ANTONIA MARÍA MUÑOZ PRAENA, ÁNGELA MARÍA GUERRERO CRESPILO, ISABEL VICIANA RAMOS, RAFAELA BARRANCO TORRES, PLACIDA JAIMEZ RUIZ.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL VIRGEN DE LA VICTORIA

*Provincia:* MÁLAGA

*Correo electrónico del primer firmante:* ampraena@gmail.com

**Introducción:**

La infección por el virus de la Hepatitis B es un problema mundial de salud pública, ya que provoca entre 500.000 y 1.000.000 de muertes al año. El Virus de la Hepatitis B tiene la tasa de mutaciones más alta entre los virus ADN que infectan al hombre. Presenta 7 genotipos diferentes clasificados de la A a la H con un patrón de distribución geográfica más o menos definido. Diferentes estudios señalan la utilidad clínica de la determinación del genotipo, tanto en la evolución de la enfermedad como en la respuesta al tratamiento.

**Objetivos:**

Estudiar la distribución de los genotipos del virus de la Hepatitis B en nuestra área de referencia.

**Material y Métodos:**

Para la determinación del genotipo de la hepatitis B fue necesario conocer previamente la carga viral, que se cuantificó en el equipo COBAS Ampliprep / COBAS Taqman (Roche)

Para la realización del genotipado utilizamos 450 µl de suero o plasma. Obtuvimos el ADN mediante extracción en el sistema automatizado MagNapture Compact (Roche).

Se realizó la amplificación del ADN por PCR (reacción en cadena de la polimerasa), mediante secuenciación de una región de la transcriptasa reversa del virus, en un termociclador convencional con el Genotyping Kit TRUGENE<sup>®</sup> HBV (Siemens), seguido de una electroforesis en gel de poliacrilamida en un secuenciador semiautomatizado Open Gene (Siemens). La lectura de las secuencias se llevó a cabo mediante un programa informático.

**Resultados:**

Hemos estudiado 127 pacientes procedentes de los servicios de Medicina Interna y Digestivo, de los cuales 38 eran mujeres (30%) y 89 hombres (70%), con edades comprendidas entre 18 y 74 años (media 44 años). La carga viral media fue de 1,7 x 10<sup>7</sup> copias/mL.

Los Genotipos obtenidos fueron:

A -----30 (23%)  
B ----- 1 (0.78%)  
C ----- 6 (4.7%)  
D -----72 (56.6%)  
E -----10 (7.88%)  
F ----- 6 (4.7%)  
G -----2 (1.57%)  
H -----0

#### Conclusiones:

1. Los Genotipos del virus de la hepatitis B predominantes en nuestra área fueron el D y A con una mayor incidencia en hombres, correspondiendo el 83% al Genotipo A y el 67% al D.
2. También observamos que existe una concordancia entre nuestro estudio y la bibliografía consultada en cuanto a la distribución geográfica del genotipo al coincidir en la prevalencia del genotipo D y A en nuestra zona.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 128

### IDENTIFICACIÓN DE HONGOS LEVADURIFORMES POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS

*Autor/a/s:* Vázquez Barba Isabel Dolores, Gandía Gonzalez María Aranzazu, Ruiz Perez de Pipaón María Teresa

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Virgen del Rocío

*Provincia:* Sevilla

*Correo electrónico del primer firmante:* belyvb@hotmail.com

#### Introducción:

Las infecciones fúngicas por hongos levaduriformes han experimentado un importante aumento en los últimos años, especialmente las infecciones invasoras en pacientes inmunodeprimidos. Para poder establecer el tratamiento antifúngico adecuado, es necesario conocer en el menor tiempo posible la identificación a nivel de especie del microorganismo implicado. Actualmente, con los métodos disponibles en el laboratorio de microbiología clínica esta identificación se obtiene en 2-4 días. Recientemente, la espectrometría de masas se ha introducido en la rutina clínica como una herramienta que permite acortar este tiempo a horas.

#### Objetivos:

Evaluar la tecnología MALDI-TOF (matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight) para la identificación de hongos levaduriformes aislados de muestras clínicas.

#### Material y Métodos:

Se estudiaron 200 hongos levaduriformes. La identificación se realizó por métodos convencionales, siembra en medio cromogénico (oxid) y Api Id 32 (Biomeriux) y de forma paralela mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF) de acuerdo a los protocolos del fabricante. La identificación por MALDI-TOF se consideró correcta si coincidía con la emitida por los métodos convencionales.

#### Resultados:

186 (93%) hongos levaduriformes fueron identificadas correctamente mediante la tecnología MALDI-TOF. Se encontró una discordancia entre *Candida albicans* (método convencional) y *C. dubliniensis* (MALDI-TOF). 2 *Cryptococcus neoformans* no se identificaron correctamente, y en 11 aislamientos, la espectrometría de masas no emitió ningún resultado (8 *Candida albicans*, 2 *Candida tropicalis*, 1 *Trichosporon* spp.)

#### Conclusiones:

La tecnología MALDI-TOF permite obtener una rápida identificación de hongos levaduriformes aislados en muestras clínicas y puede ser una alternativa práctica y precisa a las técnicas de identificación convencionales. Este ahorro en tiempo hasta la emisión de resultados puede suponer un gran beneficio para los pacientes, como mejora en el diagnóstico y tratamiento.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 129

### INCIDENCIA DE ASTROVIRUS EN MUESTRA DE HECES DE NIÑOS

*Autor/a/s:* Roca Arenas, Melani; Baena Martínez, Mari Carmen; Navarro Ruiz, Marta; Illescas García, Dolores; Soler Arpí, Mireia; Muriana Roldan, Soraya; Simó Sanahuja, María

*Centro de trabajo:* Catlab Centre analítiques Terrassa AIE

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* inalem3@msn.com

#### Introducción:

El Astrovirus humano está bien descrito como agente causal de gastroenteritis en niños. La incidencia de esta infección varía en los diferentes estudios de un 2% a 9%, en función de las series.

#### Objetivo:

Se pretende determinar la incidencia de Astrovirus, en un área de Barcelona. Catlab atiende una población de 850.000 habitantes en una área de Barcelona (Vallés Occidental) con 2 Hospitales comarcales y 55 centros de Atención Primaria.

#### Material y Métodos:

Durante 2.010 se realizó sistemáticamente la detección de Astrovirus a todas las heces a las que se solicitaba un estudio de virus en heces (Rotavirus-Adenovirus). La mayoría de ellas provenían de la asistencia primaria.

Para la detección de Astrovirus se utilizó una técnica de inmuno-cromatografía, Certest Astro Card de BiotecR (anticuerpos monoclonales de ratón anti-astrovirus-microesferas rojas).

Para el estudio de Rotavirus y Adenovirus se utilizó también inmuno-cromatografía VikiaR Rota-Adeno de Bio-Merieux que determina simultáneamente los dos virus

#### Resultados:

Se estudiaron 2.195 heces pertenecientes a otros tantos pacientes. Se detectó Rotavirus en 221 casos que representa un 10% de las positividades, el Adenovirus se encontró en 51 de las muestras (2%) y sólo 17 casos fueron positivos a Astrovirus (1%).

El 41% (7casos) de Astrovirus se encontró en niños menores de 1 año. 35% (6) en niños de 1 a 5 años, y 18% (3) en mayores de 5 años. Sólo se encontró un caso en un paciente adulto.

#### Conclusiones:

En nuestra área existe una baja incidencia de infección por Astrovirus

No consideramos necesaria la detección sistemática de Astrovirus, dada su baja incidencia, el carácter leve y autolimitado de la gastroenteritis. Remarcar también la baja incidencia de Adenovirus.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 131

### RENTABILIDAD DE LAS MUESTRAS NASAL Y PERIANAL EN EL CRIBADO DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS (SARM)

*Autor/a/s:* Mari Carmen, Baena Martínez; Melani, Roca Arenas; María Luisa, Sancho Arroyo; Sara, Martínez Martínez; Isabel, Alonso Chamorro; Juan Miguel, Sampietro Mata; Mariona, Xercavins Valls

*Centro de trabajo:* Catlab centre analítiques Terrassa AIE

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* mari.baena@hotmail.com

#### Introducción:

La prevalencia de *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM) ha ido aumentando en nuestros hospitales, lo que se traduce en una mayor morbimortalidad y coste sanitario. La vigilancia epidemiológica de SARM es básica en los programas de control de infección

#### Objetivo:

Conocer la rentabilidad de un cribado para SARM mediante 2 muestras simultáneas (nasal y perineal) en el Hospital Universitari Mútua Terrassa (Barcelona) durante el año 2011.

#### Material y Métodos:

El cribado para SARM se realiza en los siguientes grupos: a) pacientes procedentes de otros hospitales o centros sociosanitarios, b) pacientes ingresados que han compartido habitación o servicio con pacientes colonizados o infectados, c) pacientes con estancia >30 días, d) pacientes que reingresan con antecedentes de SARM. Se recogen muestras de exudado nasal y perineal. Siembra en medio cromogénico MRSA (bioMérieux), incubación a 35°C y lectura a las 24 y 48 horas. Identificación mediante aglutinación de *S. aureus* y antibiograma mediante método Vitek (bioMérieux).

#### Resultados:

Se cultivaron 2076 pacientes. Fueron positivos para SARM 224 (10,8%). La rentabilidad de las muestras fue:

MUESTRAS	Nº	%
Nasal POSITIVO / Perineal POSITIVO	70	31,3

MUESTRAS	Nº	%
Nasal POSITIVO / Perineal NEGATIVO	104	46,4
Nasal NEGATIVO / Perineal POSITIVO	50	22,3

### Conclusiones:

Destacamos la importancia de realizar el cribado para SARM en muestra nasal y perineal simultáneamente, ya que en un 22,3% de los pacientes solo se ha detectado en la muestra perineal.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 150

## DIAGNÓSTICO DE SÍFILIS EN EL HOSPITAL VIRGEN DE LA VICTORIA DE MÁLAGA DURANTE EL AÑO 2011

*Autor/a/s:* MOYA MORENO, MARIA TERESA. MUÑOZ PRAENA, ANTONÍA MARÍA. BARRANCO TORRES, RAFAELA. CLAVIJO FRUTOS, ENCARNACIÓN. TORRES CARRILLO, FRANCISCA MARÍA

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LA VICTORIA.

*Provincia:* MALAGA

*Correo electrónico del primer firmante:* tere\_moya@hotmail.com

### Introducción:

Las infecciones de transmisión sexual (ITS) son un grave problema de salud pública por la morbilidad, complicaciones y secuelas que producen.

Desde mediados de 1990 se ha observado un incremento del número de casos, la tasa de incidencia en 2009 fué de 5,33 /100000 habitantes, este incremento va acompañado en muchos casos de infección por VIH.

### Objetivos:

Conocer los resultados obtenidos según los métodos serológicos utilizados en el laboratorio para la detección del *Treponema pallidum* en las muestras recibidas en el Hospital Virgen de la Victoria durante el año 2011.

### Material y Métodos:

Hemos detectado la presencia de anticuerpos frente a *Treponema pallidum* a todas las muestras remitidas a nuestro laboratorio mediante el Test treponémico ELISA IgG + IgM (Vircell), como cribado, a los casos positivos se realizó el RPR (Becton Dickinson), como test no treponémico, y el TPHA (SPINREACT) como prueba confirmatoria. A los pacientes con RPR >1/16 le analizamos la presencia de anticuerpos frente a HIV, VHC y VHB.

### Resultados:

De las 16.154 pruebas serológicas remitidas en el 2011, fueron positivas 633 (3,92%), a todas se les realizó pruebas serológicas no treponémicas diagnosticándose 64 (10,11%) pacientes con sífilis.

El test de ELISA tiene gran sensibilidad, por ello también es necesario realizar el TPHA y para saber si la infección se encuentra activa realizamos, una prueba no treponémica. Pudimos comprobar que un (10,11%) de las muestras ELISA y TPHA positivas presentan una infección activa.

Se trataba de 59 (92,18%) varones y 5 (7,81%) mujeres con una edad media de 38,7 (21-69) años en varones y 33,6 (27-47) años en mujeres.

De los pacientes diagnosticados con sífilis eran HIV positivos 34 (53,2%), de los cuales 5 estaban coinfectados con VHC y solamente 1 con VHB. Sin embargo los pacientes con sífilis activa y HIV negativos no mostraron coinfección con VHC o VHB.

### Conclusiones:

El estudio serológico es imprescindible en el diagnóstico de estas infecciones. No hemos encontrado discrepancias del ELISA con el TPHA.

La sífilis es más frecuente en hombres de mediana edad y la coinfección con VHB y VHC es mayoritariamente en pacientes HIV positivos debido a que comparten la misma vía de transmisión.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 156

## COMPARACIÓN DE LA TÉCNICA SEPTIFAST (ROCHE) CON EL HEMOCULTIVO CONVENCIONAL PARA EL DIAGNÓSTICO PRECOZ DE SEPSIS EN PACIENTES DE UCI Y HEMATOLOGÍA

*Autor/a/s:* SIVIANES VALDECANTOS MARIA NIEVES, PARRA SÁNCHEZ MANUEL, MORILLA ROLDAN LOLA, PEREZ ROSA LUIS, ISNARD CARO LEONARDO, BERNAL MARTÍNEZ SAMUEL, MARTÍN MAZUELOS ESTRELLA, PALOMARES FOLIA JOSÉ CARLOS

*Centro de trabajo:* UNIDAD CLINICA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y

MICROBIOLOGIA. HOSPITAL UNIVERSITARIO DE VALME

*Provincia:* SEVILLA

*Correo electrónico del primer firmante:* nievessivianes@hotmail.com

### Introducción:

La elevada morbimortalidad asociada a la sepsis implica la instauración precoz del tratamiento, que dependerá del aislamiento del microorganismo responsable en el hemocultivo (HC). Sin embargo la detección temprana del patógeno mediante técnicas basadas en ácidos nucleicos puede facilitar el diagnóstico y la rápida adecuación del tratamiento, disminuyendo la mortalidad.

Nuestro objetivo ha sido evaluar una técnica de PCR a tiempo real: LightCycler® SeptiFast kit (Roche Diagnostic) que permite la identificación de los 25 patógenos más frecuentemente asociados con sepsis en comparación con el HC convencional y otras muestras obtenidas en días previos o posteriores.

### Material y Métodos:

Desde Enero de 2011 hasta febrero de 2012 se procesaron en paralelo, para HC y Septifast, 149 muestras de sangre correspondientes a 110 pacientes (84 hombres (56,4%) y 65 mujeres (43,6%)) ingresados en la unidad de cuidados intensivos y en la Unidad de Hepatología del Hospital de Valme y con edades comprendidas entre 18 y 89 años. La mediana de edad era de 57 años (Q1-Q3: 39-70). La extracción de ADN se realizó con un método automático (MagNA Pure compact, Roche) y la PCR en el sistema LightCycler® 2.0 (Roche Diagnostic). Los HC se procesaron en el sistema Bactec 9240 (Becton-Dickinson).

### Resultados:

Mediante el HC se obtuvieron 27 resultados positivos y 122 resultados negativos. Con Septifast, 24 fueron positivos y 125 fueron negativos. El porcentaje de concordancia entre ambos métodos fue del 84,6%. De los 16 resultados discordantes (HC +, Septifast -), 1 corresponden a HC + por microorganismos no incluidos entre los patógenos detectados por Septifast (*Aeromonas hydrophila/caviae*) y 9 HC + considerados contaminantes (1 caso de *Propionibacterium* spp y 8 casos *Staphylococcus coagulans* negativo). En 12 de los resultados discordantes el HC fue negativo y en Septifast se detectó uno o más patógenos, obteniéndose cultivos positivos para dicho microorganismo en otras muestras en el 41,6 % de los casos. En 3 HC negativos, Septifast detectó ADN *C. krusei* en dos casos y *C. parasilpsis* respectivamente.

### Conclusiones:

- 1) Excepto en 6 casos, Septifast detectó todos los casos de hemocultivos positivos salvo en aquellos casos en los que se aisló un agente no incluido en la lista maestra del Septifast (SML).
- 2) Este método permite adelantar el diagnóstico y tratamiento, por lo que puede ser una herramienta complementaria al HC.
- 3) Hay que destacar su papel en el diagnóstico de las infecciones fúngicas, siendo más sensible que el HC convencional.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 160

## EPIDEMIOLOGÍA DE LA TUBERCULOSIS EN EL AREA SANITARIA DE TOLEDO

*Autor/a/s:* VILLARRUBIA MARTIN-VILLAMUELAS, ELVIRA. SÁNCHEZ BRIGIDANO, Mª DE LOS ANGELES. DE OLIVES MANUEL DE VILLENA, FRANCISCA. AYUSO LÓPEZ, NATALIA. FUENTES GONZÁLEZ, CRISTINA. MARTINO CASTAÑAR, Mª VICTORIA

*Centro de trabajo:* HOSPITAL VIRGEN DE LA SALUD

*Provincia:* TOLEDO

*Correo electrónico del primer firmante:* elvirubiamartin@yahoo.es

### Introducción:

Actualmente la tuberculosis (TBC) sigue siendo una de las enfermedades más importantes. Hay algunos factores que pueden desestabilizar el control de la incidencia logrado en países desarrollados: movimientos migratorios, condiciones higiénico-ambientales y el aumento de pacientes con la inmunidad comprometida.

### OBJETIVO:

Evaluar en el área de salud de Toledo la incidencia y epidemiología (y las resistencias a fármacos antituberculosostáticos) de TBC y trazar un estudio comparativo entre las cepas de población española y extranjera.

### Material y Métodos:

Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo donde se revisaron 280 historias clínicas de pacientes con aislamiento de *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC), período comprendido entre 2006-2011.

El diagnóstico se realizó mediante tinción Ziehl-Neelsen y el cultivo en medio sólido (Lowenstein) y en medio líquido (MGIT).

Para la identificación utilizamos sonda de ADN AccuPROBE de la casa comercial GEN-PROBE.

Los antibiogramas se realizaron utilizando el sistema comercial de BD (SIRE), confirmándose en el Centro Nacional de Microbiología las cepas que presentaron alguna resistencia.

#### Resultados:

- La población media del área de salud de Toledo es de 418.926 habitantes de los cuales nacionales son 383.659 y 35.276 son extranjeros.
  - En nuestro estudio se aisló el MTBC en 191 casos españoles (0,05%) frente a 89 pacientes extranjeros (0,25%).
  - Se han estudiado 280 casos positivos de MTBC de los cuales el 31,8% corresponden a pacientes extranjeros (Europa de Este 12,5%, África del Norte 10,7%, América Latina 5,3%, África Subsahariana 1,8% y Asia Central 1,5%).
  - El 33% de los casos se asocia a alguna enfermedad inmunodepresora ( 25% diabetes, 22% oncológicos, 21% HIV o Hepatitis víricas, 20% alcoholismo y 12% otros).
  - El 13,21% presenta alguna resistencia:
- 6,79% Resistente a un tuberculostático de primera línea, el 85% de los nacionales son mayores de 65 años y el 100% de los extranjeros entre 20-65 años.
  - 5,71% MDR (moderadamente resistente), EL 100% de las cepas de españoles son pacientes varones (el 87,5% son mayores de 65 años) y las cepas de extranjeros se dividen al 50% entre ambos sexos (el 75% corresponden a menores de 65 años).
  - 0,71% XDR (extremadamente resistentes).

#### CONCLUSIONES:

- Mayor incidencia de TBC en población extranjera . (0.25% frente a 0.05% población española ).
- La TBC se asocia frecuentemente a pacientes inmunodeprimidos ( 33% ).
- Las monoresistencias son mayores en cepas aisladas de pacientes españoles con edad superior a 65 años.
- Hemos aislado el mismo número de cepas MDR\_TBC en pacientes españoles y extranjeros, cabe destacar que las cepas MDR-TBC de españoles son sobre todo en varones mayores de 65 años frente a las de extranjeros que están comprendidos entre 20 y 65 años y distribuidos por igual en ambos sexos.
- Las cepas XDR-TBC son muy escasas en nuestro medio, existiendo solo dos casos y ambos pacientes extranjeros.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 162

### INCIDENCIA DE INFECCIÓN POR *S. AGALACTIAE* EN EL ÁREA DE VALME (SEVILLA) EN TRES PERIODOS DIFERENTES (INSERTAR TÍTULO EN MAYUSCULAS)

*Autor/a/s:* García Jiménez Maribel, Velasco Macías Candela, Domínguez Pérez Claudio, Leonardo Isnard Caro, Florez Alía Carmen, Aller García Ana Isabel y Martín Mazuelos Estrella

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario de Valme

*Provincia:* Sevilla

*Correo electrónico del primer firmante:* maribelgarciajimenez@gmail.com

#### Objetivos:

Conocer la incidencia y formas clínicas de la infección neonatal por *S. agalactiae* entre los periodos 1994-1995, 1999-2000 y 2010-2011, y el impacto que ha tenido la introducción de la profilaxis intraparto, siguiendo las directrices del CDC.

#### Métodos:

el sistema de hemocultivos utilizado fue el BACTEC 9240 con los frascos BACTEC PEDIATRIC/F. La identificación se realizó por métodos convencionales. El screening de *S. agalactiae* se realizó en muestras vagino-rectales, entre las 35 y 37 semanas de gestación en el medio de Granada (favoreciendo la anaerobiosis con un cubreobjetos) y desde el año 2002, las muestras se siembran en un medio de enriquecimiento (medio Todd Hewitt) y posteriormente se hace un pase a medio Granada.

#### Resultados:

La incidencia de sepsis por año y por mil nacidos vivos fue: 12 casos en 1994 (3,26 por mil), 10 en 1995 (3,68 por mil), 6 en 1999 (1,67 por mil), 5 en 2000 ( 1,49 por mil), 0 en 2010 y 1 en 2011 (0,29 por mil). El screening tuvo una positividad en el periodo 1999-2000 del 14,2 %, mientras que en el último periodo, tuvo una positividad del 17,9 %. La cobertura del screening en los años 2010-2011 fue del 99,6%.

#### Conclusiones:

La incidencia de infección por *S. agalactiae* es significativamente menor en el último periodo, debido a la introducción de la profilaxis a partir de 1997, del añadido del medio

de enriquecimiento Todd-Hewitt desde 2002, a la implantación del NUHSA ( número único histórico de sanidad andaluza), que identifica perfectamente al paciente y ayuda al seguimiento exhaustivo e inequívoco de su historia clínica; y a la utilización de un programa informático que permite el fácil y rápido acceso al resultado del screening en todo el área del Hospital de Valme.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 163

### IASLAMIENTO DE BACTERIAS Y HONGOS A PARTIR DE MUESTRAS DE EXUDADO ÓTICO PROCEDENTES DE ATENCIÓN PRIMARIA

*Autor/a/s:* Pilar Morales Galán, Leonardo Isnard Caro, Ana Romero Mejias, J L García López y E Martín Mazuelos

*Centro de trabajo:* . H Valme

*Provincia:* Sevilla

*Correo electrónico del primer firmante:* pilarmoralesgalan@hotmail.com

#### RESUMEN:

Las otitis son un problema frecuente en las consultas de Atención Primaria. El objetivo de este trabajo es conocer y analizar los principales agentes etiológicos aislados a partir de muestras de exudado ótico procedentes de pacientes atendidos en las consultas de Atención Primaria en el área del Hospital de Valme que atiende a una población de 343576 habitantes (memoria 2010).

#### Material y Métodos:

Desde Marzo de 2009 hasta Diciembre de 2011 se procesaron 3147 exudados óticos. Las muestras se sembraron en agar sangre, agar chocolate, agar MacConkey (bioMerieux) y se incubaron 48 h a 35° C, cuando se solicitó cultivo de hongos se añadió una placa de CHROMagar Candida (BBL), dos tubos: agar Saboueaud (bioMerieux) y Micobiotic (Difco) y se incubaron 7 días a 35 ° C, además se sembró otro tubo de Saboueaud a temperatura ambiente durante 7 días. La identificación de las bacterias se realizó mediante tarjetas GN, GP y NH del sistema Vitek2 (bioMérieux). Para la identificación de las levaduras se usó la tarjeta YST del sistema Vitek2 y/o la presencia de coloración típica en la placa cromogénica. La identificación de hongos filamentosos se realizó por técnicas microscópicas.

#### Resultados:

Fueron positivas 986 (31.3%) muestras: 706 (71.6%) bacterias y 280 (28.4%) hongos. En la tabla siguiente se muestra la distribución de los mismos.

Microorganismo	n	Microorganismo	n	Microorganismo	n
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	307	<i>Staphylococcus aureus</i>	147	<i>Aspergillus niger</i>	70
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	6	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	21	<b><i>Aspergillus flavus</i></b>	41
Otros BGNMF	28	<b><i>Enterococcus faecalis</i></b>	15	<i>Aspergillus terreus</i>	12
<i>Escherichia coli</i>	30	<i>Streptococcus pyogenes</i>	11	<i>Aspergillus glaucus</i>	5
<i>Klebsiella</i> spp	22	<i>Streptococcus agalactiae</i>	3	<i>Aspergillus fumigatus</i>	4
<i>Proteus</i> spp	18	Otros estreptococos	4	TOTAL <i>Aspergillus</i>	132
<i>Enterobacter</i> spp	15	Total CGP	201	<i>Candida parapsilosis</i>	109
<i>Citrobacter</i> spp	12			<i>Candida albicans</i>	26
<i>Serratia marcescens</i>	12			<i>Candida krusei</i>	5
<i>Morganella</i> spp	10			<i>Candida glabrata</i>	4
<i>Vibrio alginolyticus</i>	6			<i>Candida famata</i>	1
<b><i>Aeromonas</i> spp</b>	2			<i>Candida tropicalis</i>	1
<i>Haemophilus influenzae</i>	44			<i>Rhodotorula</i> spp	1
<b><i>Moraxella catarrhalis</i></b>	2			TOTAL levaduras	147
<b>TOTAL BGN</b>	<b>503</b>			<b>TOTAL Hongos</b>	<b>279</b>

#### Conclusiones:

1. *P. aeruginosa* fue el microorganismo aislado con más frecuencia seguido de *S. aureus*. 2. El 28.4% de los aislamientos fueron hongos. 3. De los hongos filamentosos, *A. niger* fue el más frecuente y de las levaduras *C. parapsilosis*.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 164

### UTILIZACIÓN DEL TEST DE *HELICOBACTER PYLORI* EN HECES PARA DIAGNÓSTICO Y CONTROL POSTTRATAMIENTO EN EL ÁREA SUR DE SEVILLA.

*Autor/a/s:* Isnard Caro Leonardo Jesús, Morales Galán Pilar, López Sánchez Manuel, Vargas Romero Julio y Martín Mazuelos Estrella

Centro de trabajo: Hospital de Valme  
Provincia: Sevilla  
Correo electrónico del primer firmante: leois2010hotmail.com

#### RESUMEN:

La infección por *Helicobacter pylori* es una de las principales causas de la gastritis crónica activa, úlcera duodenal, úlcera gástrica, linfoma gástrico primario de células B y adenocarcinoma gástrico. Entre los métodos invasivos, la endoscopia con la toma de biopsia sigue siendo el estándar de oro para el diagnóstico inicial de la infección, pero los métodos no invasivos como el test de aliento y el antígeno fecal son una alternativa válida tanto para el diagnóstico como para el seguimiento postratamiento en pacientes adultos y pediátricos. Se han probado múltiples esquemas para el tratamiento de *H. pylori*, pero en el Consenso de Maastricht-III se estableció que para considerar un régimen de tratamiento como recomendable debe de alcanzar una eficacia no inferior al 80 %.

Nuestro objetivo es mostrar los resultados de erradicación, determinados mediante el test de antígeno en heces, en pacientes atendidos en nuestra área sanitaria y ver si el tratamiento empleado es efectivo.

#### Material y Método:

Se estudian de forma retrospectiva a 300 pacientes seleccionados al azar (193 mujeres y 107 hombres), con una edad media de 43,9 años (2-79) y atendidos Consultas Externas de Digestivo del Área Sanitaria del Hospital de Valme de Sevilla por síntomas dispépticos.

El diagnóstico de infección por *H. pylori*, en todos los pacientes se realizó mediante el ensayo de membrana inmunocromatográfica para la determinación de antígeno de *H. pylori* en muestras de heces RAPID Hp StARTM OXOID, UK (HpAg). Se trata de un ensayo cualitativo, se utilizaron muestras de heces recogidas recientemente y se siguieron las instrucciones del fabricante para su realización.

Todos los pacientes fueron tratados frente a *H. pylori* utilizando, según protocolo, la triple terapia (amoxicilina, claritromicina y omeprazol) o la cuádruple terapia, añadiendo a la anterior metronidazol. Ambas durante 10 días. En el plazo de 4-8 semanas después de la última dosis administrada se le realizó igualmente a todos los pacientes un control de erradicación utilizando el mismo ensayo de antígeno en heces.

#### Resultados:

De los 300 pacientes y después del tratamiento se obtuvo una erradicación a las 4-8 semanas, determinada mediante el test HpAg en heces en 241 pacientes, lo que representa un 80,3 % y en 59 casos ( 19,7%) no se produjo erradicación. En cuanto a la distribución por sexo obtuvimos una erradicación del 75,7 % en hombres y de 82,9 % en mujeres.

De los 59 pacientes no erradicados se pudieron recoger los resultados de control de erradicación mediante HpAg en heces tras un tratamiento de rescate en 27 casos. En 11 pacientes (6 hombres y 5 mujeres) el HpAg fue negativo y en 16 pacientes (8 hombres y 8 mujeres) el test HpAg continuó positivo tras 4-8 semanas de finalizado el tratamiento.

#### Conclusiones:

1. El test de antígeno en heces es una prueba fácil de realizar y el formato de inmunocromatografía permite poder hacerlo en cualquier laboratorio de microbiología de una forma rápida e individual.
2. Los resultados de erradicación indican que los tratamientos utilizados de forma rutinaria en nuestra área cumplen de forma muy justa con los criterios de efectividad
3. Esto puede ser debido al aumento de la resistencia a la claritromicina, por falta de cumplimiento del tratamiento por parte de los algunos pacientes o por la necesidad de aumentar el tiempo de duración por encima de los 10 días.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 167

### ESTUDIO DE LA NECESIDAD DE UN SEGUNDO TEST TREPONÉMICO EN EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR *TREPONEMA PALLIDUM*

Autor/a/s: Salvador Lorenzo María José; María Domínguez Bernardina; Clemente Aquilar María Del Mar; Prieto Del Rey Encarnación.

Centro de trabajo: Hospital Universitario de Salamanca

Provincia: SALAMANCA

Correo electrónico del primer firmante: mariajo19@yahoo.es

#### Introducción:

En los últimos años, se han introducido en el diagnóstico de la infección por *Treponema pallidum* nuevas pruebas serológicas que emplean antígenos treponémicos para la detección de anticuerpos específicos, mediante técnicas de enzimoimmunoensayo y quimioluminiscencia. Estos métodos, dada su elevada sensibilidad (95,8%) y especificidad (99,1%), así como su facilidad de realización y su automatización, han desplazado a las pruebas no treponémicas (RPR, VDRL) en el cribado del diagnóstico de la sífilis. Sin embargo, dada su elevada sensibilidad, los CDC recomiendan la realización de un segundo test treponémico (TPHA ó FTAabs) en caso de positividades de dichas pruebas

y test no treponémico negativo. La positividad de esta segunda prueba confirmaría el resultado, mientras que un resultado negativo obligaría a una tercera prueba, si bien no sería indicación de tratamiento. Este estudio pretende establecer un posible criterio para la realización de una segunda prueba treponémica ante un resultado de enzimoimmunoensayo positivo con RPR negativo.

#### Materiales y Métodos:

Se han estudiado un total de 13.282 sueros recogidos entre 1 de enero de 2010 y 31 de diciembre de 2011. A todos ellos se les ha realizado la determinación de anticuerpos específicos frente a *Treponema pallidum* mediante un sistema automatizado de inmunoensayo quimioluminiscente por micropartículas (Architect syphilis TP, Abbott Laboratories). Las muestras positivas (>1 S/Co) se clasificaron en tres grupos según las cifras de lectura obtenidas (1 ; 2,5 ; 2,5 ; 5 y >5 S/Co). A todas ellas se les realizó un RPR (Cromatest, Linear Chemical S.L). Se seleccionaron aquellas con RPR negativo. Se realizó FTAabs (Trepo-Spot IF, Biomerieux) como segunda prueba treponémica específica a muestras con lectura  $\leq 5$  S/Co y RPR negativo y a 22 muestras con cifras >5 S/Co y RPR negativo seleccionadas al azar. Se estudió además el comportamiento de estas pruebas de manera específica en mujeres embarazadas.

#### Resultados:

El 2,8% (380) de todas las muestras estudiadas resultaron positivas para la técnica de cribado. De las 380 muestras, un total de 80 mostraron RPR negativo y lectura de inmunoensayo específico  $\leq 5$  S/Co. De las 80 muestras, el 70% resultaron negativas por FTAabs (56 muestras). De estas 56 muestras, 47 mostraron lecturas menores de 2,5S/Co y sólo 9 muestras, una lectura entre 2,5 y 5 S/Co. Por el contrario, el FTAabs resultó positivo en el 100% (22) de muestras con valores mayores de 5 S/Co y RPR negativo. Finalmente, en mujeres embarazadas, el FTAabs fue negativo en 19 de las 22 (86,9%) muestras estudiadas con valores  $\leq 5$ S/Co.

#### COMENTARIOS:

Estos resultados confirman la elevada sensibilidad y especificidad que presenta, en este caso, la técnica de inmunoensayo empleada en nuestro laboratorio como técnica de cribado en el diagnóstico de la infección por *T. pallidum*. Esta elevada sensibilidad en los casos en que el RPR resulta negativo, obliga a descartar la infección con otra técnica treponémica específica, sobre todo en aquellos casos en que los valores obtenidos sean cercanos al punto de corte de la técnica, debido a la mayor incidencia de probables falsos positivos en estas muestras. Cabe señalar, además, la importancia de confirmar la positividad de las muestras cuando proceden de mujer embarazada, dada la mayor probabilidad de falsas reactividades, la importancia de este diagnóstico en el feto o recién nacido, la elevada eficacia del tratamiento prenatal y finalmente, y no menos importante, el aspecto social de esta enfermedad.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 168

### INCIDENCIA, ESTUDIO COMPARATIVO DE MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO (CULTIVO- PCR) E IDENTIFICACIÓN DE *BORDETELLA PERTUSSIS*

Autor/a/s: M<sup>a</sup> TERESA CUADRADO BENITO, M<sup>a</sup> DEL MAR CLEMENTE AGUILAR, M<sup>a</sup> JOSE DE CABO MORALES, M<sup>a</sup> JOSE SALVADOR LORENZO

Centro de trabajo: HOSPITAL CLÍNICO DE SALAMANCA

Provincia: SALAMANCA

Correo electrónico del primer firmante: majoca66@hotmail.com.

#### Introducción:

*Bordetella pertussis* es un cocobacilo gramnegativo que posee un tropismo por las vías respiratorias. Es el agente causante de Tos ferina comúnmente conocida como tos convulsiva o coqueluchoide. Se trata de una enfermedad aguda del tracto respiratorio altamente contagiosa. Los cuadros más graves se observan en lactantes menores de un año, donde pueden dar lugar a hipoxias, daños cerebrales o muerte; mientras las formas más leves se dan en niños mayores o adultos.

#### Objetivos:

Aislar la bacteria mediante cultivo. Detectar cualitativamente el DNA bacteriano en las muestras por reacción en cadena de la polimerasa PCR, para comparar ambos métodos de diagnóstico.

Mostrar que el porcentaje de positivos para *Bordetella pertussis* es mayor en niños lactantes menores de un año que en otros grupos etéreos.

Valorar la espectrometría de masas como sistema de identificación en este caso.

#### Materiales y Métodos:

Se estudian 48 muestras en el Departamento de Microbiología años (2010-2011) de hisopos y aspirados nasofaríngeos. Se les realiza cultivo selectivo de *Bordetella pertussis* (*Bordet-Gengou* más suplemento de Cefalexina).

El DNA bacteriano de las muestras se detecta con PCR. En ésta técnica la extracción del DNA

se hace en Nuclisens Easy Mag. La PCR se realiza mediante la amplificación de fragmentos de 191 pb correspondiente al promotor de la toxina B pertussis y su visualización en gel de agarosa al 1%.

La identificación de las colonias sospechosas se realiza mediante espectrometría de masas (MALDI ToF).

#### Resultados:

De las 48 muestras estudiadas, resultaron 14 (29%) positivas para cultivo; mientras que 24 (50%)

fueron positivas para PCR convencional.

Del total de las muestras estudiadas 28 fueron niños menores de un año; resultaron positivas 17(61%). Las 20 restantes eran pacientes iguales o mayores de un año de las cuales 7 (35%) fueron positivas.

Las 14 muestras positivas en cultivo se identificaron por espectrometría de masas, dando como resultado Bordetella pertussis.

	positivos	negativos	totales
<b>CULTIVO MALDI TOF</b>	14 (29%)	34 (71%)	48
<b>PCR</b>	24 (50%)	24 (50%)	48
<b>&lt; DE 1 AÑO</b>	17 (61%)	11 (39%)	28
<b>&gt;- DE 1 AÑO</b>	7 (35%)	13 (65%)	20

#### Conclusiones:

La introducción en el año 1940 de una profilaxis específica con vacunación para Tos ferina ocasionó

una reducción drástica de la enfermedad; pero en el presente estudio, según los resultados obtenidos observamos un incremento de los casos en el año 2011. Un mayor porcentaje de positivos en pacientes menores de un año, coincidiendo con otras revisiones bibliográficas. Esto junto con la labilidad de la bacteria hace que se busquen métodos más rápidos y de mayor sensibilidad como son las técnicas de biología molecular PCR.

La espectrometría de masas ha resultado una técnica rápida y fiable para la identificación de Bordetella pertussis comparada con otros métodos usados para el mismo fin.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 172

### BENEFICIO DE LOS PACIENTES INFECTADOS POR VIH-1 CON LAS NUEVAS TÉCNICAS MÁS SENSIBLES DE CUANTIFICACIÓN DE LA CARGA VIRAL.

Autor/a/s: Méndez López Isabel M<sup>a</sup>, Noria Rocamonde Carmen, Ramos Abis M<sup>a</sup> Fe

Centro de trabajo: Hospital Regional Universitario Carlos Haya

Provincia: Málaga

Correo electrónico del primer firmante: chiquimen@hotmail.es

#### Introducción:

La carga viral (CV) del virus de la Inmunodeficiencia humana (VIH) se conoce como la cantidad de virus circulante en una muestra biológica y hace referencia al número de copias de RNA presentes en un mililitro de plasma, se puede expresar en copias/ml o log10.

La determinación de la CV plasmática es el mejor marcador de respuesta al tratamiento antirretroviral, ya que es una técnica sensible, rápida y fiable, por tanto muy eficaz para el clínico en el seguimiento del paciente infectado por VIH. Además, la monitorización de la CV de un paciente bajo tratamiento antirretroviral permite detectar el fracaso terapéutico con rapidez.

Con el desarrollo de la metodología, cada vez se utilizan técnicas más sensibles, que permiten mejorar el seguimiento del paciente. En nuestro laboratorio hemos cambiado la metodología para cuantificar la CV del VIH-1, antes de 2011 utilizamos el método bDNA (Siemens) y desde entonces usamos kPCR (Siemens).

#### Objetivo:

Evaluar la mejora en el seguimiento de los pacientes VIH + en tratamiento antirretroviral con el cambio de técnica de bDNA (sensibilidad 50 copias/ml) a kPCR (sensibilidad 37 copias/ml)

#### Material y Métodos:

La técnica que utilizamos para cuantificar la carga viral del VIH es una RT-PCR en tiempo real, VERSANT HIV-1 RNA 1.0 Assay (kPCR Siemens).

Este sistema consta de dos módulos:

1) SP, para hacer la extracción automática del ácido nucleico, para lo cual utiliza 500 ml de plasma.

2) El módulo AD, que amplifica y cuantifica el virus en tiempo real.

#### Resultados:

Durante el año 2011 hemos cuantificado el VIH-1 por kPCR (Siemens) en 5.135 muestras de pacientes infectados por VIH-1. Del total de muestras analizadas, hemos cuantificado cargas de VIH-1 entre 37 copias/ml y 50 copias/ml en 131 muestras, lo que significa que el 2,5 % de las muestras analizadas se han beneficiado con el cambio de técnica cuantitativa a una más sensible.

#### Conclusión:

Con las nuevas técnicas metodológicas de cuantificación de CV más sensibles, el seguimiento de pacientes infectados por VIH-1 se mejora.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 180

### DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE ITS CON PCR MULTIPLEX EN UN LABORATORIO DE CATALUNYA (ESPAÑA).

Autor/a/s: Conxita Berrar Colmenero, Rosa Sánchez Úbeda, Judith Lucena Nemirosky, Josefa Pérez Jove, María Simó Sanahuja.

Centro de trabajo: Catlab

Provincia: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: xavierconxita@gmail.com

#### Introducción:

Las ITS están en aumento en España y toda Europa debido a una serie de cambios en los hábitos sexuales de la población. Pueden estar provocadas por más de un microorganismo causante de enfermedad. Existen métodos moleculares que nos permiten diagnosticar coinfecciones mediante plataformas múltiples y ofrecer un tratamiento más adecuado a la población afectada.

#### Objetivos:

Describir la etiología y la frecuencia de coinfección de las ITS en nuestra área.

#### Métodos:

Recientemente hemos incorporado una PCR multiplex (Seeplex STD6, Segeene) que detecta Chlamydia trachomatis (CT), Neisseria gonorrhoeae (NG), Mycoplasma genitalium (MG), Ureaplasma urealyticum (UU), Trichomonas vaginalis (TV) y Mycoplasma hominis (MH).

Recibimos muestras de 93 centros de extracción. Éstas son transportadas a nuestro laboratorio cuya área de influencia es de 850.000 habitantes.

#### Resultados:

Obtuvimos 1346/2602 muestras positivas (52%). Infección simple en 661/2602 (25%) y coinfección en 685/2602 (26.5%). UU 253/2602 (10%), MH 173/2602 (7%), CT 131/2602 (5%), NG 60/2602 (2%), MG 24/2602 (1%), TV 20/2602 (1%). Las coinfecciones más frecuentes: UU+MH (96/2602, 4%), UU+CT (44/2602, 2%) Y MH+CT (34/2602, 1%). CT y NG se encuentran coinfectando en un 0,3%.

#### Conclusiones:

Una sola técnica permite detectar las infecciones más prevalentes en nuestra área.

Remarcamos la importancia de MG (5% de los casos), presentándose más frecuentemente en coinfección ( $p < 0,0001$ ).

Es fundamental la utilización de técnicas moleculares para la detección de microorganismos de difícil crecimiento y también por las características de nuestro laboratorio.

Implicaciones para los Programas de Política e Investigación

Las PCRs de plataforma múltiple son muy útiles y resultan económicas, pero deberían serlo aun más para que las poblaciones con menos recursos accedieran a esta tecnología. Además, permiten conocer de manera más amplia la situación de las ITS ante los cambios sexuales de este siglo testando a la población en riesgo, cada vez más joven.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 181

### ESTUDIO SOBRE LA TENDENCIA AL ALZA DE LÚES EN EL SECTOR I DE ZARAGOZA

Autor/a/s: TERESA OLIVÁN FELIPE, MERCEDES TEJERO ANTOÑANZAS, PALOMA VELA ESTEBAN

PILAR BAILACH CORRAL, MARIA ÁNGELES GIL ALONSO.

Centro de trabajo: C.M.E. GRANDE COVIÁN - SECTOR I

Provincia: (ZARAGOZA)

Correo electrónico del primer firmante: (TTERE14@GMAIL.COM)

### Introducción:

La Lúes es una infección crónica que pasa por distintas fases infecciosas con largos períodos de latencia. Está causada por la espiroqueta *Treponema pallidum* y se adquiere normalmente por contacto sexual, aunque también se puede transmitir por transfusión con sangre infectada y por vía intrauterina.

Su diagnóstico sólo es posible por la aparición de los anticuerpos en sangre tras la infección inicial y que pueden permanecer a lo largo de muchos años.

En nuestro laboratorio utilizamos dos técnicas para el diagnóstico de la sífilis: el RPR (por aglutinación microscópica en tarjetas desechables) y el TPHA (por aglutinación pasiva de partículas).

### Objetivos:

Nuestro objetivo es estudiar el reciente aumento de esta patología que se consideraba hasta hace unos años en regresión.

### Material y Métodos:

Hemos estudiado las peticiones recibidas en nuestro laboratorio correspondientes a sospechas de sífilis y a protocolos de embarazo durante el año 2011 (4067 muestras) y las que se realizaron en el año 2007 (2975 muestras).

Sólo nos ha interesado para nuestras conclusiones los casos detectados como nuevos, independientemente del número de muestras, ya que este aumento ha dependido también del número de embarazos.

### Resultados:

- Hemos encontrado 26 casos nuevos de sífilis durante el año 2007, 37 a lo largo de 2011 y se ha continuado el estudio con Enero de 2012 (3 nuevos casos) y Febrero de 2012 (4 nuevos casos).

- En el año 2007 tenemos un promedio de 2 casos por mes, en el 2011 de 3 casos por mes y si tenemos en cuenta los seis últimos meses (de Septiembre de 2011 a Febrero de 2012) el promedio ya sería de 4 casos nuevos por mes.

- La distribución de las muestras positivas por edades y sexo son las siguientes:

Año 2007:

- menores de 30 años: hombres: 1, mujeres: 1

- Entre 30 y 45 años: hombres:10, mujeres:13

- Entre 45 y 60 años: hombres: 5, mujeres: 5

- Mayores de 60 años: hombres: 12, mujeres:2

Año 2011: menores de 30 años: hombres: 3, mujeres:6

- Entre 30 y 45 años: hombres:15, mujeres: 22

- Entre 45 y 60 años: hombres: 9, mujeres:5

- Mayores de 60 años: hombres:4, mujeres:3

### Conclusiones:

- La franja de edad de padecer la enfermedad ha disminuido sensiblemente.

- Nos encontramos que hay un aumento bastante acentuado en el número de casos nuevos detectados, diagnosticándose aproximadamente 3 casos nuevos por mes.

- Al finalizar Enero y Febrero de 2012 observamos que la tendencia sigue siendo al alza.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 182**

### TÉCNICA DE SEROTIPADO DE *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*

*Autor/a/s:* NATIVIDAD C.SOMAZA SERANTES, ESTEFANIA SEDES DOMÍNGUEZ, MARIA CARMEN TOIRAN MASIDE, MARIA JESUS PITA SOUTO, ROSA GUTIERREZ FRAGA, MARIA JESUS VÁZQUEZ FABUENA.

*Centro de trabajo:* AREA SANITARIA DE FERROL

*Provincia:* CORUÑA

*Correo electrónico del primer firmante:* natividad.somaza.serantes@sergas.es

### Introducción:

Las enfermedades producidas por *Streptococcus pneumoniae*, constituyen una importante causa de morbilidad y mortalidad, especialmente en los lactantes, los ancianos y los afectados por enfermedades crónicas.

La superficie del neumococo se encuentra envuelta en su parte más externa por un polisacárido capsular. *S. pneumoniae* se clasifica en 93 serotipos según la estructura química y antigénica de los polisacáridos capsulares.

### Objetivo:

Serotipado de todas las cepas invasivas de *S. pneumoniae* aisladas en la Comunidad Gallega durante el año 2011.

### Material y Métodos:

Se estudiaron un total de 267 cepas de *S. pneumoniae*.

El *S. pneumoniae* fue identificado siguiendo métodos estándar: sensibilidad a la optoquina y solubilidad en bilis.

Para el serotipado/serogrupo se utilizaron: el test de aglutinación por látex (Pneumolátex) y la reacción de Quellung (Statens Serum Institut).

Para el serotipado/serogrupo de *S. pneumoniae*, se requiere reactivos de aglutinación por partículas de látex sensibilizadas. Estos reactivos consisten en 14 pools de antisueros de conejo A-I y P-T, constituidos por micropartículas de látex recubiertas de anticuerpos frente al antígeno del polisacárido capsular, que son específicos de serotipos/serogrupos de *S. pneumoniae*. La identificación se realiza mediante la combinación de resultados de los paneles A-I y paneles P-T.

El tipo específico de *S. pneumoniae* se identifica por la reacción de Quellung (técnica de microscopía internacional de referencia para el serotipado de *S. pneumoniae*), empleando factores específicos que producen una hinchazón de la cápsula con un halo refráctil rodeando a la célula bacteriana.

### Resultados:

De 267 cepas recibidas de *S. pneumoniae* durante el año 2011, se serotiparon 266, mientras que sólo una cepa fue no tipable.

Se encontraron 39 serotipos diferentes, siendo los mayoritarios: 3 (18,3%), 7F (15,7%) y 19A (11,6%).

### Conclusión:

Con el método descrito se han podido serotipar el 99,6% de las cepas recibidas de *S. pneumoniae*.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 190**

### IMPACTO DE LA UTILIZACIÓN DE TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR EN EL TIEMPO DE RESPUESTA DEL ANTIBIOGRAMA DE *M. TUBERCULOSIS*

*Autor/a/s:* Elvira Martínez Morales, Angels Abella Albrich, Sandra Mascort Martí, Marisa Canet Iao, Dolores Illescas García, Mireia Soler Arpí, Melani Roca Arenas, Marta Navarro Ruiz, Eva Cuchi Burgos

*Centro de trabajo:* Catlab, Centre Analítiques Terrassa, AIE

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* emoraleses@yahoo.es

### Introducción:

La tuberculosis constituye uno de los principales problemas de Salud Pública a nivel mundial. El aumento de la resistencia a los fármacos habituales, en especial isoniácida (INH) y rifampicina (RF) es uno de los motivos por los que el laboratorio de Microbiología debe detectarla e informarla con la mayor rapidez.

### Objetivo:

Cuantificar la mejora en el tiempo de información de los resultados de sensibilidad de *M.tuberculosis* a INH y RF con la introducción de un test de genética molecular

### Material y Métodos:

Las cepas de *M.tuberculosis* se obtuvieron por aislamiento en muestras clínicas sembradas en medio Middelbrook. En un primer periodo, las cepas aisladas se identificaron como *M.tuberculosis* mediante sonda de ADN (AccuProbe, ) y se enviaron a un centro de referencia (CR) para determinar su sensibilidad a tuberculostáticos de primera línea. Posteriormente se utilizó un kit de genética molecular (GenoType®MTBDR plus) para la identificación de las cepas y la determinación de su sensibilidad a INH y RF. Los tiempos de respuesta se registraron en una base de datos Acces.

### Resultados:

Desde junio de 2008 hasta abril de 2010 se estudiaron 87 cepas correspondientes a otros tantos pacientes. Hasta junio de 2009 las cepas se identificaron mediante sonda y la sensibilidad a INH y RF se estudió en CR. A partir de esa fecha se introdujo el kit de genética molecular en la rutina habitual de nuestro laboratorio. 10 cepas (11,5%) fueron resistentes a uno o ambos tuberculostáticos : 2 a INH y RF, 7 sólo a INH y 1 a RF. El tiempo promedio de información de resultados de sensibilidad a INH i RF fue de 33,3 días para las cepas enviadas a CR (n=49) y de 6,8 para las estudiadas en nuestro laboratorio por kit de genética molecular (n=38).

### Conclusiones:

La utilización de la genética molecular reduce significativamente (3 semanas) el tiempo de respuesta en el estudio de sensibilidad de *M.tuberculosis* a INH y RF, contribuyendo a la mejora del tratamiento y control epidemiológico de la tuberculosis.

## AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS ANAEROBIAS EN LA SECCIÓN DE EXUDADOS DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA EN EL HOSPITAL VIRGEN DE LA VICTORIA DURANTE EL AÑO 2011

*Autor/a/s:* ISABEL BERA RIVERO, RAFAEL MARQUEZ SALAZAR, JUAN FRANCISCO RUIZ BURGOS

*Centro de trabajo:* HOSPITAL VIRGEN DE LA VICTORIA

*Localidad:* MALAGA

*Provincia:* MALAGA

*Correo electrónico del primer firmante:* jamadrona@hotmail.com

### Introducción:

Las bacterias anaerobias son gérmenes habituales de la flora normal de la piel, membranas y mucosas del ser humano, siendo causa común de infecciones bacterianas endógenas. Para su crecimiento en un medio de cultivo necesitan una atmósfera sin oxígeno, ya que este elemento es tóxico para ellas.

### Objetivos:

Aislamiento e identificación de anaerobios en muestras de exudados recibidos en el Servicio de Microbiología del Hospital Virgen de la Victoria durante el año 2011.

### Material y Métodos:

El período del estudio comprende desde Enero hasta Diciembre de 2011. Las muestras proceden de exudados recibidos en nuestro laboratorio.

La siembra se realiza según protocolo habitual de la Sección de Exudados. Las placas se incuban a 35°C-37°C durante 48 horas. Para el aislamiento e identificación de los microorganismos anaerobios hemos utilizado:

- 1º- Aislamiento primario placas de agar Brucella y agar wilkins+amikacin
- 2º- Caldo de tioglicolato como enriquecimiento de la muestra
- 3º- Jarras o cajas y bolsas de anaerobiosis AnaerogenCompact® (Oxoid)
- 4º- Tira de azul de metileno como indicador de correcta anaerobiosis.
- 5º- Tarjetas ANC Biochemical Card del sistema Vitek (bioMérieux®) para la identificación.
- 6º- Estufa a temperatura de 35°C-37°C.

Para el estudio de la sensibilidad hemos suspendido de 3 a 5 colonias en un caldo de tioglicolato a una densidad de turbidez equivalente al 0,5 de la escala turbidimétrica de McFarland, aplicándolo en placas de agar Brucella. Una vez secas las placas se colocan las tiras de E-test® (AB Biodisk) sobre la superficie del agar.

### Resultados:

Se han evaluado 4876 muestras de Exudados; de las cuales 3535 ha sido positivas. Dentro de estas encontramos 143 muestras que han dado como resultado bacterias anaerobias.

A su vez, dentro de estas bacterias anaerobias encontramos los siguientes géneros:

- Bacilos Gram Negativos, entre los cuales encontramos 95 positivos de bacterias del género Bacteroides, 16 positivos del género Prevotella y 7 positivos del género Fusobacterium.
- Bacilos gran positivos, entre los cuales encontramos 12 positivos del género Clostridium spp y 8 positivos del género Propionibacterium.
- Cocos Gram Positivos con un resultado de 5 positivos de Peptostreptococcus.
- Cocos Gram Negativos, de los que no se han obtenido resultados positivos durante el año 2011.

Los resultados porcentuales fueron:

- BG(-) Bacteroides 66,4 %
  - Prevotella 8,4 %
  - Fusobacterium 4,9 %
- BG(+) Clostridium 8,4 %
  - Propionibacterium 5,6%
- CG(+) Peptostreptococcus 3,5%

### Conclusiones:

En las muestras analizadas durante el año 2011 podemos decir que los microorganismos anaerobios más numerosos son las bacterias Gram negativas del género el Bacteroides, las cuales podemos encontrar en la flora saprofita del tracto gastrointestinal, tracto genital y úlceras a lo largo de todo el tronco inferior.

Dentro de los bacilos Gram positivos el más importante es el Clostridium perfringens, productor de gangrenas en exudados y heridas. También puede encontrarse como comensal dentro de la flora intestinal.

Y por último encontramos las bacterias Cocos Gram positivas del género Peptostreptococcus que viven predominantemente en la boca, la piel, el aparato digestivo y el excretor, y componen una parte de la flora intestinal bacteriana.

## HEPATITIS B OCULTA (OBI) Y DONACION

*Autor/a/s:* Corres Medrano, Ricardo; Moreno Rodriguez, Pilar; Fernandez Angulo, Cristina; Rezola Llama, Ana Rosa; Ibarra Fontán, Adelaida

*Centro de trabajo:* Centro Vasco de Transfusiones y Tejidos Humanos (CVTTH)

*Provincia:* Bizkaia

*Correo electrónico del primer firmante:* ricardocorres@gmail.com

### Introducción:

La transmisión de infecciones víricas es una de las mayores preocupaciones en la transfusión de hemoderivados.

Las pruebas de cribado serológico han reducido enormemente el riesgo de transmisión de dichas infecciones pero no lo han eliminado. El avance de la tecnología de pruebas de ácido nucleico (NAT) permite seguir reduciendo el riesgo de transmisión siendo capaces de detectar periodos ventana, infecciones crónicas e infecciones ocultas.

La Hepatitis B oculta (OBI) se caracteriza por la presencia de DNA VHB a niveles bajos (<100 UI/mL) en ausencia de HbsAg detectable y presencia para Anti-HBc total.

### Objetivos:

Poner de manifiesto el hallazgo de donaciones con serología de rutina negativa y resultado positivo en las pruebas de detección genómica PCR NAT MPX, evaluando la incidencia de OBI en nuestra población de donantes y la incidencia de donaciones con prueba PCR NAT MPX inicialmente reactiva y Anti-HBc aislado.

Analizar las características de estos donantes (sexo, edad, donaciones anteriores).

### Materiales y Métodos:

Desde enero de 2008 a diciembre de 2011 se han analizado un total de 398.625 donaciones de sangre.

A todas nuestras muestras se les realiza serología de rutina mediante el sistema automático PRISMA (Abbott) y PCR NAT MPX en sistema automático Cobas 201 System de Roche.

La prueba PCR NAT MPX se realiza con pools de 6 muestras para detectar ARN de HIV-1 y 2, HCV y ADN de HBV

A los pools inicialmente reactivos se les realiza PCR unitaria de las 6 donaciones, si una de estas es positiva se da por resuelto, si las 6 unitarias son negativas se repite (2ª vez) PCR unitaria y además se realiza Anti-HBc en sistema ARCHITECT i2000 (Abbott). Si el Anti-HBc es positivo se realiza Anti-HBs.

### Resultados:

Hemos realizado 63.619 pools de los que 159 han sido inicialmente reactivos. En 13 de estos pools hay al menos una muestra que cumple criterios de OBI (el resto han sido: 1 periodo ventana y pools con muestras con serologías positivas).

Hemos encontrado también dentro de los pools inicialmente reactivos 21 que aunque todas las muestras incluídas en ellos han sido negativas en forma unitaria, en cada uno de los 21 pools hay al menos una muestra Anti-HBc positiva con distintas cantidades de Anti HBs.

### Conclusiones:

La incidencia de OBI en nuestra población de donantes según estos datos es de 4 OBI por cada 100.000 donaciones, aunque este dato no es muy significativo ya que los niveles de carga viral de Hepatitis B en estas infecciones, aunque siempre bajas, oscilan y así unas veces se detectan y otras no.

En este tiempo no hemos tenido comunicación de que ninguno de éstos donantes esté implicado en IVTT.

La edad media de los donantes con OBI es de 45 a 50 años y están asintomáticos; todos los donantes con OBI tenían donaciones anteriores con resultados PCR NAT MPX negativos.

No tenemos claro el significado del resultado PCR NAT MPX inicialmente reactivo en los 21 pools que tenían al menos una muestra con Anti-HBc positivo, pero nos parece una medida prudente la exclusión de éstos donantes a menos que la dosificación de Anti-HBs sea superior a 100 UI/L.

## ESTUDIO DEL VIRUS RESPIRATORIO SINICIAL EN EL ÁREA DEL HOSPITAL DE ARANJUEZ: DISTRIBUCIÓN POR EDADES Y PATRÓN ESTACIONAL

*Autor/a/s:* Elena García García, Teresa Figueroa Montesinos, Cristina García Guzman, Lorena Benitez Hernández, Lorena Roldan Muelas, Alicia Teresa Pelaez Muñoz, Cristina Salvador Amuedo

*Centro de trabajo:* Laboratorio de Urgencias BR Salud. Hospital del Tajo



## Resultados:

	Campylobacter		Salmonella		Yersinia		S. Aureus		Totales
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	
< 3 años	28	18	18	5	0	1	1	0	<b>71</b>
3 a 5 años	8	10	2	6	0	1	0	0	<b>27</b>
6 a 12 años	6	6	3	7	0	0	1	0	<b>23</b>
13 a 15 años	2	0	0	0	0	0	0	0	<b>2</b>
16 a 18 años	0	0	1	0	0	0	0	0	<b>1</b>
> 18 años	3	5	6	4	0	0	0	0	<b>18</b>

	Campylobacter	Salmonella	Yersinia	S. Aureus	Totales
<b>Primavera</b>	31	13	0	1	<b>45</b>
<b>Verano</b>	20	20	0	1	<b>41</b>
<b>Otoño</b>	25	12	2	0	<b>39</b>
<b>Invierno</b>	9	7	0	0	<b>16</b>

## Conclusiones:

1ª.- En nuestro medio la mayor incidencia de aislados es de Campylobacter, seguido de Salmonella. No se observan diferencias significativas entre aislados de Yersinias y de S. Aureus.

2ª.- Entre los aislados de Campylobacter la mayor incidencia se da en varones en edad preescolar.

3ª.- El mayor número de aislados patológicos corresponde a las estaciones más cálidas.

4ª.- Estacionalmente la infección por Campylobacter tiene mayor incidencia en la Primavera.

5ª.- No hay diferencias significativas en aislados patológicos de coprocultivos en los mayores de 5 años, a excepción de Salmonella.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 247

## SE PUEDE USAR LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS MALDI-TOF MS® PARA LA DETECCIÓN DE CARBAPENEMASAS EN PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Autor/a/s: MORENO PUERTAS M.I., ESPIGARES GALLARDO M.A., TORO BARNES D.

Centro de trabajo: HOSP. UNIVERSITARIO SAN CECILIO Localidad: GRANADA

Provincia: GRANADA

Correo electrónico del primer firmante: mopuisa@Yahoo.es

## RESUMEN:

Las bacterias gramnegativas y en especial Pseudomonas aeruginosa, presentan con frecuencia resistencia a carbapenemes. La resistencia a carbapenemes se ha incrementado en los últimos años causada por alteraciones en la membrana bacteriana o por la producción de carbapenemasas.

## Objetivo:

Valorar la utilización de la espectrometría de masas MALDI-TOF MS® para la detección de carbapenemasas de clase A o B en Pseudomonas aeruginosa.

## Material y Métodos:

Empleamos 18 aislados de Pseudomonas aeruginosa productoras de carbapenemasas clase A o B identificados por el método de difusión disco-placa: para ello se emplearon los siguientes discos: meropenem 10µg, meropenem 10µg + ácido borónico, meropenem 10µg + cloxacilina y meropenem 10µg + ácido dipicolínico (Rosco Diagnostica). Se analizaron picos de hidrólisis del meropenem tras la acción de las carbapenemasas mediante espectrometría de masas MALDI-TOF MS® y para ello se incubó cada aislado durante 3 horas y media junto a 10µl de meropenem (AztraZeneca, 10 mg/ml) a 37°C, realizándose posteriormente el análisis del espectro obtenido usando el software flezAnalysis 3.0 (Bruker Daltonics GmbH, Germany). Como controles negativos se utilizaron 25 cepas de Pseudomonas aeruginosa sensibles a meropenem y 8 cepas de Pseudomonas aeruginosa con impermeabilidad de membrana, no detectables mediante la metodología utilizada.

## Resultados:

De las 18 cepas productoras de carbapenemasas clase A o B, (3/18 clase A, 5/18 clase B, y 10/18 A+B), la técnica de espectrometría de masas MALDI-TOF MS® detectó picos de degradación del antibiótico en estudio correspondientes a la presencia de carbapenemasas en 17/18 casos (94.4%). En las cepas usadas como controles negativos, la espectrometría de masas MALDI-TOF MS® indicó la ausencia de carbapenemasas clase A o B en 31/33 (93.9%) casos. Estos datos indican una sensibilidad de la técnica del 94.4%, con una

especificidad del 93.9%, un valor predictivo positivo del 96.9% y un valor predictivo negativo del 89.5%.

## Conclusión:

La espectrometría de masas MALDI-TOF MS® puede ser una herramienta útil para la confirmación de carbapenemasas clase A y B en Pseudomonas aeruginosa.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 248

## SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS AISLADOS DE E. COLI EN INFECCIONES DEL TRACTO URINARIO (ITUS) EN EL AREA DE INFLUENCIA DEL HOSPITAL SAN CECILIO DE GRANADA

Autor/a/s: TORO BARNES D., ESPIGARES GALLARDO M.A., MORENO PUERTAS M.I.

Centro de trabajo: HOSP. UNIVERSITARIO SAN CECILIO

Provincia: GRANADA

Correo electrónico del primer firmante: laslolailas@Yahoo.es

## Objetivos:

Estudiar la prevalencia de los aislados de Escherichia coli en ITUs a nivel hospitalario y extrahospitalario y conocer la evolución en la sensibilidad a los principales antimicrobianos de elección durante el periodo 2007-2010.

## Metodología:

Se ha realizado un estudio descriptivo retrospectivo de los aislamientos de Escherichia coli procedentes de muestras de orina desde el 1 de enero de 2007 a 31 de diciembre de 2010. La identificación y la determinación de la sensibilidad antimicrobiana se realizó mediante el sistema automático Wider® (Soria Melguizo). Se valoró la sensibilidad a los siguientes antibióticos: Amoxicilina (AMOX), Amoxicilina-Ac Clavulánico (AMC), Cefuroxima (CFX), Gentamicina (GM), Ciprofloxacino (CIP), Trimetoprim/Sulfametoxazol (T/S), Nitrofurantoína (NF), Fosfomicina (FOS), Imipenem (IMP) y Ertapenem (ETP). La identificación de cepas productoras de β-lactamasa de espectro extendido (BLEE) se realizó mediante paneles Wider® de Soria Melguizo.

## Resultados:

8776 de 125157 (7%) muestras de urocultivo resultaron positivas a E. coli. La distribución por años de los aislados en el periodo de estudio fue: 2007 (56.7%), 2008 (57.7%), 2009 (59%), 2010 (61.9%); Al estudiar la sensibilidad a nivel hospitalario (H) y extrahospitalario (EH) a los antimicrobianos se obtuvieron los siguientes resultados.

AMOX (H: 28%, EH: 33.7%), AMC (H: 73.4%, EH: 77.54%), CFX (H: 76.3%, EH: 79.2%), GM (H: 85.7%, EH: 86.8%), CIP (H: 62.8%, EH: 62.6%), T/S (H: 55.9%, EH: 59.7%), NF (H: 97.3%; EH: 96.8%), FOS (H: 97.7%, EH: 96.8%), siendo todos los aislados sensibles a carbapenemes. No se observaron diferencias significativas al estudiar la evolución de la sensibilidad en ambos grupos (H y EH).

## Conclusiones:

La incidencia de E. coli se mantiene en valores superiores al 50% de los aislados.

No se observan diferencias significativas en la sensibilidad global a nivel hospitalario y extrahospitalario a los antimicrobianos estudiados.

La tasa de sensibilidad a los fármacos de elección en ITUs se mantiene elevada, cabe destacar que, además de a la amoxicilina, la mayor tasa de resistencia la encontramos a Ciprofloxacino y Cotrimoxazol.

Fosfomicina y Nitrofurantoína se presentan como los fármacos más sensibles a los aislados de E. coli en muestras urinarias.

La presencia de E. coli productoras de betalactamasas de espectro extendido en el periodo de estudio es del 8.7%, no mostrando una tendencia ascendente en los últimos 4 años.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 276

## ESPECTRO MICROBIOLÓGICO EN PACIENTES PROCEDENTES DE CONSULTA DE TRASPLANTE RENAL DEL HOSPITAL CLÍNICO SAN CARLOS EN AÑO 2011.

Autor/a/s: Prieto Casado, Pablo, Torralbo Monasterio, M<sup>o</sup> Jose, Racionero Hernández, Angela, Martín Ramírez, Emérita.

Centro de trabajo: Hospital Clínico San Carlos

Provincia: MADRID

Correo electrónico del primer firmante: pprieto\_casado@hotmail.com

## Introducción:

El paciente trasplantado como consecuencia de la cirugía y debido a la inmunodepresión, requiere un exhaustivo control de patógenos responsables de infecciones urinarias. El

objetivo es estudiar el espectro microbiológico de los urocultivos en pacientes provenientes de consulta de trasplante renal del Hospital Clínico San Carlos en el año 2011.

### Material y Métodos:

Se analizaron de manera retrospectiva 4636 urocultivos de enero -diciembre 2011. Se sembraron en Agar Sangre, Agar Mac Conkey y Agar Sabouraud Gentamicina Cloranfenicol 2 (SGC2) de Biomerieux® y se incubaron 18-24 horas en estufa a 37°C sin CO<sub>2</sub>, reincubando la placa SGC2 otras 24 horas en caso de negatividad. Las orinas con criterio de infección bacteriológico se les realizó identificación y antibiograma mediante sistema Wider® y las orinas criterio de infección para hongos se realizó una identificación con sistema Vitek® y Sensititre® para conocer su sensibilidad.

### Resultados:

Orinas positivas 1198 (25,8%), negativas 2854 (61,5%), contaminadas 484 (10,4%).

El número de cepas aisladas fue de 1409, 1286 (91,2%) Bacterias y 123 (8,7%) Hongos.

La distribución fue la siguiente:

Bacterias:

- Bacilos:

Enterobacterias	Bacilos Gram Negativos no Fermentadores de glucosa	Otros bacilos
782 (60,8%)	57 (4,3%)	24 (1,8%)

Dentro de Bacilos Gram Negativos Fermentadores hubo 363 (28,22%) aislados de *Escherichia coli* presentando 24 (6,6% del total de *E. coli*) Betalactamasas de espectro extendido (BLEE). También hubo 176 (13,7%) aislados de *Klebsiella pneumoniae* siendo 46 (26,1% del total de *K. pneumoniae*) portadores de BLEE.

- Cocos Gram Positivos:

Staphylococcus aureus	Staphylococcus coagulasa negativos	Genero Enterococcus	Streptococcus agalactiae	Otros Cocos Gram Positivos
15 (1,15%)	104(8%)	203 (15,8%)	77 (6%)	25 (1,9%)

(% con respecto al número total de bacterias aisladas).

Hongos:

- Levaduras genero *Candida albicans* 35 (28,5%), *C. glabrata* 59 (47%), *C. krusei* 12 (9,7%), *C. parapsilosis* 8 (6,5%), otras *Cándidas* 7 (5,7%).

(% con respecto al número total de levaduras aisladas).

### Conclusiones:

El índice de urocultivos positivos (25,8%) es inferior al número de orinas positivas del resto de población atendida en Hospital Clínico San Carlos siendo aproximadamente del 40%.

Las infecciones mas frecuentes fueron producidas por Enterobacterias.

Hay un porcentaje elevado de portadores de BLEE en cepas de *Klebsiella pneumoniae*.

La levadura de mayor porcentaje aislada es *Candida glabrata* algo normal en una población seleccionada como los pacientes procedentes de nefrología.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 277**

### AISLAMIENTO DE ROTHIA MUCILAGINOSA EN MUESTRAS RESPIRATORIAS

*Autor/a/s:* Racionero Hernandez, Angela; Arribi Vilela, Ana; Prieto Casado, Pablo; Merino Marina Ana.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Clínico San Carlos

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* angelaracionero@hotmail.com

### Introducción:

*Rothia mucilaginosa* es un coco Gram-positivo aerobio que se encuentra habitualmente formando parte de la cavidad orofaríngea. En los últimos años se ha revelado como un patógeno oportunista, produciendo infección en pacientes debilitados por su enfermedad de base o inmunocomprometidos por diversos motivos. Así, se ha descrito como agente causal en casos aislados de bacteriemia, endocarditis, artritis séptica y cada vez con mayor frecuencia en casos de infección respiratoria de vías bajas.

### Objetivo:

Analizar, en nuestra población, la frecuencia de aislamientos de *R. mucilaginosa* en muestras del tracto respiratorio inferior (TRI) y sus características microbiológicas, así como su patrón de sensibilidad antibiótica.

### Material y Métodos:

Se revisaron retrospectivamente todos los cultivos de TRI (n=10476) de pacientes con sospecha de infección respiratoria recibidas en nuestro laboratorio durante 2 años (2010 y 2011). Revisamos 6425 esputos, 3445 aspirados bronquiales, 387 lavados broncoalveolares (BAL) y 219 catéteres telescopados (CTP).

Las muestras fueron cultivadas en Agar sangre, Agar chocolate y Agar McConkey (Biomerieux®) e incubadas en atmósfera aeróbica con CO<sub>2</sub> al 5%, durante 48 horas. Las muestras obtenidas mediante broncoscopia se sembraron en los mismos medios, añadiendo un agar *Brucella* (Difco®) incubado en anaerobiosis, cuantificando el número de ufc/ml y se incubaron durante 5 días. La identificación de las colonias sospechosas de pertenecer al género *Rothia*, se realizó mediante espectrofotometría laser (MALDITOF® Bruker). El antibiograma se realizó en agar Mueller-Hinton sangre (Biomerieux®) con un McFarland de 0.5 y mediante disco-difusión que se incubó 24 horas en aerobiosis con CO<sub>2</sub>. Se testaron 7 antibióticos: Penicilina, Azitromicina, Tetraciclina, Rifampicina, Cotrimoxazol, Clindamicina y Levofloxacino.

### Resultados:

Obtuvimos un total de 224 aislamientos de *R. mucilaginosa* en los dos años del estudio, pertenecientes a 200 pacientes. En 221 casos se trataba de esputos (193) y aspirados bronquiales (28), en 2 CTP y en 1 caso BAL.

En 157 muestras (70%) el cultivo fue puro y en el 30% restante obtuvimos crecimiento de algún otro microorganismo.

Los cultivos mixtos correspondían en un 47,8% a *Candida sp.* y/o *Aspergillus sp.*, un 22,4% a bacilos Gram-negativos, un 13,4% a cocos Gram-positivos y un 16,4% a cultivos con dos o más microorganismos.

El patrón de sensibilidad se expresa en la siguiente tabla.

ANTIBIÓTICO	SXT	RA	CC	P	Te	AZM	LVX
RESISTENCIAS(n)	109	4	99	21	0	33	116
%	54,5	2	49,5	10,5	0	16,5	58

SXT (cotrimoxazol), RA (rifampicina), CC (clindamicina), P (penicilina), Te (tetraciclina), AZM (azitromicina),

LVX (levofloxacino)

### Conclusiones:

La identificación de *R. mucilaginosa* se ha visto mejorada con los nuevos métodos espectrofotométricos a nuestro alcance en los últimos años.

Es un microorganismo a tener en cuenta como patógeno emergente en infecciones del tracto respiratorio inferior.

El antibiograma para estudiar su patrón fenotípico de resistencias debería incluir Quinolonas, Cotrimoxazol y Clindamicina debido al elevado porcentaje de resistencias frente a estos antibióticos de uso habitual en infecciones respiratorias.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 279**

### COMPARACION DEL SISTEMA API-20A CON LA ESPECTOMETRIA DE MASAS EN LA IDENTIFICACION DE BACTERIAS ANAEROBIAS.

*Autor/a/s:* ENCARNACIÓN PRIETO DEL REY, MARIA ELVA GONZALEZ GONZALEZ, ROSA MARIA GARCIA CAMAZANO, ENRIQUE CALVO BLANCO

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA

*Provincia:* SALAMANCA

*Correo electrónico del primer firmante:* elvag90@hotmail.com

### Introducción:

El hábitat de las bacterias anaerobias está limitado a zonas corporales del hombre y de los animales donde la tensión de oxígeno es baja. La mayoría de ellos se comportan como patógenos oportunistas, teniendo su hábitat preferente en el colon y causando infecciones a partir de esta localización. El dato de un absceso en un enfermo en el que los cultivos habituales no logran aislar microorganismos es esencial para sospechar que ese absceso contiene bacterias anaerobias. La identificación a nivel de género y especie de los aislamientos clínicos se ha venido realizando habitualmente mediante técnicas metabólicas y enzimáticas que tienen notables limitaciones, en especial con las especies metabólicamente menos activas. Recientemente, la aparición de las técnicas proteómicas ha permitido modificar estos protocolos. Sin embargo conseguir identificar la especie (e incluso en ocasiones el género) de todos los aislamientos es una tarea prácticamente imposible.

### Objetivo:

Comparación de dos métodos de identificación: el sistema tradicional basado en pruebas bioquímicas (API 20A) con la identificación proteómica (espectrometría de masas MALDI-TOF) para la identificación de bacterias anaerobias.

## Material y Método:

Se han estudiado un total de 64 aislamientos clínicos: 34 *Bacteroides fragilis*, 5 *B. thetaiotaomicron*, 8 *B. ovatus*, 7 *B. vulgatus*; 3 *Parabacteroides distasonis*; 2 *Prevotella melaninogenica*, 3 *Prevotella bivia* y 2 *Clostridium perfringens*.

A todas ellas se les realizó el sistema enzimático API 20 A, y la espectrometría de masas MALDI-TOF; estos resultados fueron comparados con el método de referencia de secuenciación genómica (rRNA 16S).

## Resultados:

-De los 64 aislamientos identificadas con el sistema API 20A se han obtenido los siguientes resultados:

100% de concordancia para *Clostridium perfringens*. 77% *B. fragilis*. 80% *B. ovatus*. 57% *B. vulgatus*. 20% *B. thetaiotaomicron*. 25% *Parabacteroides distasonis*. 50% *Prevotella melaninogenica*. 100% *Prevotella bivia*.

-De los 64 aislamientos identificadas con el sistema MALDI-TOF se han obtenido los siguientes resultados 100% concordancia para *Clostridium perfringens*. *B. fragilis*. *B. ovatus*. *B. thetaiotaomicron*. *Parabacteroides distasonis*. *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella bivia*. 72% *B. vulgatus*.

## Conclusiones:

Para *Bacteroides fragilis*, y *B. ovatus* el porcentaje de concordancia fue elevado, así como para *Clostridium perfringens*.

Para los *Bacteroides vulgatus*, *B. thetaiotaomicron*, y *Parabacteroides distasonis* el porcentaje de concordancia es bajo. Para estas especies el sistema API 20A requiere periodos de incubación más prolongados; aún así siguen teniendo bajo éxito de identificación.

La espectrometría de masas MALDI-TOF permite proporcionar una mayor agilidad en la liberación de resultados (pasando de horas a minutos), presentando el MALDI una precisión superior a los métodos enzimáticos (API 20A).

El sistema de espectrometría de masas MALDI-TOF identificó casi el 100% de las cepas. Este resultó el método más rápido, sencillo y eficaz.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 280**

## EFICACIA DE LA ANTIGENURIA EN EL DIAGNOSTICO PRECOZ DEL NEUMOCOCO FRENTE A LOS HEMOCULTIVOS

*Autor/a/s:* MARIA ELVA GONZALEZ GONZALEZ, ENCARNACION PRIETO DEL REY, M. TERESA CUADRADO BENITO, BERNARDINA MARIA DOMINGUEZ.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA

*Provincia:* SALAMANCA

*Correo electrónico del primer firmante:* (elvag90@hotmail.com)

## Introducción:

*Streptococcus pneumoniae*, es un microorganismo patógeno capaz de causar en humanos, tanto infecciones locales (otitis, sinusitis, etc.) como procesos invasivos severos (meningitis, septicemias, neumonías etc.). Se trata de una bacteria Gram positiva, alfa-hemolítica del género *Streptococcus*. Generalmente en la tinción de Gram se presenta en forma de diplococo, o en cadenas cortas.

El hábitat natural de neumococo es la nasofaringe humana y la colonización puede tener lugar durante los primeros días de vida. El diagnóstico etiológico de la neumonía se ha basado tradicionalmente en el cultivo de muestras respiratorias o de sangre. Entre las primeras, la de esputo es la más utilizada por obtenerse de forma simple. El resultado del cultivo, al que debe preceder la tinción de Gram, se tiene transcurridas 48 h como mínimo, lo que, sumado a los conocidos problemas de sensibilidad y especificidad, hace que el método sea poco rentable. Además la obtención adecuada de muestras de esputo es con frecuencia dificultosa. El hemocultivo comparte con el cultivo de esputo el problema del retraso y la baja sensibilidad. El desarrollo en los últimos años de sencillos métodos de antigenuria supone un importante avance al resolver parte de los problemas citados.

## Objetivo:

Conocer la eficacia de la detección de antígeno de neumococo en orina en el diagnóstico precoz de neumonía neumocócica.

## Material y Método:

La prueba BinaxNOW® para *Streptococcus pneumoniae* es un ensayo, inmunocromatográfico rápido para la detección del antígeno de *S. pneumoniae* en la orina de pacientes con sospecha de neumonía.

Se estudiaron durante un periodo de 10 meses, 44 hemocultivos positivos para neumococo, detectados mediante el sistema Bactec 9240 y aislados con sistemas de cultivo tradicionales. Solo 17 de estos hemocultivos contaron con la detección de antígeno para dicha bacteria, mediante el sistema de inmunocromatografía BinaxNOW®.

## Resultados:

Se contabilizaron un total de 44 muestras positivas en hemocultivo para *S. pneumoniae*, de las cuales a 27 no se le solicitó antigenuria (61,36%). De las 17 solicitadas, resultaron 12 positivas (70,5%) y 5 negativas (29,5%).

La procedencia de los pacientes fue la siguiente: 16 de urgencias, 11 medicina interna, 8 de UVI, 6 hematología-oncología, 2 neonatos, 1 nefrología.

De las 12 antigenurias positivas: 4 procedían de hematología-oncología, 3 de urgencias, 3 de medicina interna y 2 de UVI.

De las 5 antigenurias negativas: 2 procedían de hematología-oncología, 1 de urgencias, 1 de medicina interna y 1 de UVI.

## Conclusiones:

La detección de antígeno de neumococo es una técnica rápida, simple y de gran sensibilidad con la que se obtiene una respuesta rápida ante la sospecha de neumonía

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 285**

## ESTUDIO DESCRIPTIVO EPIDEMIOLÓGICO DE LOS AISLAMIENTOS DE LEVADURAS EN MUESTRAS RECIBIDAS EN NUESTRO LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DURANTE EL PERÍODO DE UN MES.

*Autor/a/s:* LÓPEZ ÁLVAREZ FRANCISCA, PAZOS PACHECO CARMEN, DOMINGUEZ RONCERO ANGEL

*Centro de trabajo:* HOSPITAL SAN PEDRO DE ALCÁNTARA

*Provincia:* CÁCERES

*Correo electrónico del primer firmante:* paquilopezal@gmail.com

## Introducción:

En los últimos años estamos asistiendo a un importante incremento del número de infecciones fúngicas levaduriformes, producidas por aumento de pacientes inmunosuprimidos y por intensificaciones de terapias con fármacos citotóxicos, antibióticos de amplio espectro y corticoides.

Esto origina un impacto clínico que conlleva a realizar un diagnóstico etiológico eficaz.

## Objetivos:

Describir la incidencia y epidemiología de las infecciones fúngicas levaduriformes en nuestro Laboratorio de Microbiología durante el periodo de un mes, en pacientes hospitalizados y ambulatorios de nuestra área sanitaria, comparando dos métodos de diagnóstico micológico: cultivo manual en medio cromogénico (Candiselect 4, Bio-Rad) que permite la identificación presuntiva en 24-48 horas de especies de *Candida* spp en función de la coloración y morfología de las colonias macroscópicas que crecen en la superficie del agar y tarjetas de identificación (ID-YST) mediante el sistema VITEK 2 (BioMérieux) que permiten la identificación de especies de levaduras y organismos levaduriformes en función de diferentes pruebas de asimilación de nutrientes mediante tecnología de fluorescencia en aproximadamente 15 horas.

## Material y Métodos:

Procedimos a la siembra micológica en agar glucosado de Sabouraud suplementado con gentamicina y cloranfenicol (SGC2, BioMérieux) de las muestras recibidas en nuestro Laboratorio de Microbiología durante el mes de Enero de 2012, en las cuales se solicitaba cultivo de hongos, y se incubaron las placas a 30° C durante 24 horas. Si en ellas se observaba crecimiento de colonias blanquecinas compatibles con levaduras, procedíamos a realizar:

- un pase de las colonias en agar Candiselect4 que se incubaban a 30°C durante 24 horas y que cuando procedíamos a la lectura de las mismas, si se observaba hidrólisis del sustrato cromogénico presente en el agar originando unas colonias lisas de coloración malva, permitía identificar las levaduras como *Candida albicans*; si las colonias eran lisas y la coloración viraba a verde con halo más claro, permitía identificar las levaduras como *Candida glabrata*, y si las colonias eran secas y rugosas con coloración verdosa, permitía identificar a las colonias como *Candida krusei*. Para el resto de las especies de levaduras y de organismos levaduriformes, las colonias eran de color blanco.

- una suspensión de las colonias en solución salina estéril (0,45%) ajustándola a la escala 2 de McFarland, que se inocula y se sella en las tarjetas ID-YST de forma totalmente automatizada y que tras una incubación a 30°C, realiza a las 15 horas la lectura de la turbidez de las celdillas transfiriendo la información al ordenador donde obtenemos una interpretación automática de las diferentes especies de organismos levaduriformes cultivados.

## Resultados:

Se recibieron en nuestro Laboratorio de Microbiología un total de 12394 muestras durante el mes de Enero de 2012 correspondientes a 720 pacientes, de las que en 129 muestras (1%) se realizaron aislamientos significativos de levaduras.

Estos aislamientos de cultivos de levaduras se distribuyeron en diferentes localizaciones anatómicas: exudados genitales (45%) 57 vaginales y 1 uretral; muestras respiratorias (33.3%) 23 esputos y 20 broncoaspirados; exudados de heridas (4.6%); exudados orofaríngeos (4.6%) 3 orofaríngeos y 3 bucales; anejos cutáneos (3.1%) 4 uñas; exudados óticos (3.1%); catéteres (1.55%); orinas (1.55%); biopsias (0.77%); líquido pleural (0.77%) y líquido peritoneal (0.77%).

Estos aislamientos de cultivo de levaduras se distribuyeron en diferentes especies fúngicas: 100 cepas de *Candida albicans* (77.5%), 13 cepas de *Candida glabrata* (10%), 8 cepas de *Candida parapsilosis* (6.2%), 4 cepas de *Candida krusei* (3.1%),

1 cepa de *Candida tropicalis* (0.8%), 1 cepa de *Candida guilliermondii* (0.8%), 1 cepa de *Candida famata* (0.8%) y 1 cepa de *Saccharomyces cerevisiae* (0.8%).

La concordancia entre los dos métodos diagnósticos utilizados fue del 92.2%, ya que:

- los aislamientos de *Candida albicans* (100), *Candida glabrata* (13) y *Candida Krusei* (1) coincidieron en su identificación utilizando tanto las tarjetas ID-YST de Vitek2 como el Candiselect4 ya que hidrolizan el sustrato cromogénico creciendo en el agar como colonias lisas malvas, colonias lisas verdes con halo claro y colonias rugosas y secas de coloración verdosa respectivamente.

- los aislamientos de *Candida parapsilosis* (8), *Candida tropicalis* (1), *Candida guilliermondii* (1), *Candida famata* (1) y *Saccharomyces cerevisiae* (1) fueron identificados solamente utilizando las tarjetas ID-YST de Vitek2, ya que ninguna de ellas permite hidrolizar el sustrato cromogénico y creciendo en el agar como colonias blanquecinas.

### Conclusiones:

La incidencia de aislamientos de levaduras en las muestras recibidas en nuestro Laboratorio de Microbiología durante el mes de Enero de 2012 fue del 1%, por lo que es recomendable realizar siempre cultivo micológico de las muestras sospechosas de infección fúngica, para realizar un diagnóstico etiológico correcto de las infecciones.

Los aislamientos levaduriformes realizados se localizaron mayoritariamente en muestras genitales (45%) y respiratorias (33.3%), por lo que debemos de incluir siempre el cultivo micológico en las mismas por la alta prevalencia de infección fúngica que presentan.

Las principales especies aisladas fueron *Candida albicans* (77.5%), *Candida glabrata* (10%) y *Candida parapsilosis* (6.2%) tal como está reflejado en los estudios epidemiológicos publicados en la literatura científica.

La concordancia entre los dos métodos diagnósticos utilizados en la identificación de levaduras (ID-YST y Candiselect4) fue del 92.2%, presentando mejores resultados el sistema de tarjetas ID-YST Vitek2.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 287

## ESTUDIO COMPARATIVO DE PARÁSITOS INTESTINALES EN HECES EN EL LABORATORIO DE ATENCIÓN PRIMARIA

*Autor/a/s:* CAMPUZANO GRAU YOLANDA, MATEOS JIMENEZ FERNANDO, ROMERA RAMIREZ MONSTE, TORRES ABREU MARGARITA, AGUSTÍ MIRO ANA.

*Centro de trabajo:* LABORATORIO DIAGNÓSTICO CLÍNICO BON PASTOR

*Provincia:* BARCELONA

*Correo electrónico del primer firmante:* nyna34@hotmail.com

### Introducción:

Un problema importante de los trastornos intestinales está provocado por los parásitos. Siendo la población infantil una de las más afectadas.

### Objetivos:

Determinar la incidencia de parásitos intestinales en una población de 0 a 99 años y realizar un estudio comparativo entre las muestras de 2007 y 2008.

### MATERIAL Y METODOS:

Estudio retrospectivo a partir de muestras en heces, recibidas entre el periodo de Enero 2007 a Diciembre 2008.

El método utilizado para la detección es la técnica de concentración COPRO-PACK 1 (Biomerieux), tinción para *Cryptosporidium* y examen microscópico.

### Resultados:

En el periodo de tiempo estudiado se han procesado 9697 peticiones, de las cuales un 93% son negativas.

En el 2007 el nº de peticiones es de 4908, un 6% son positivas. Encontramos 53% *Giardia Lamblia*, 34% *Blastocystis Hominis*, y 12% de otros.

En el 2008 el nº de peticiones es de 4789, un 8% son positivas. Hallamos 38% *Giardia Lamblia*, 51% *Blastocystis Hominis* y 12% de otros.

A partir de las muestras positivas calculamos los porcentajes de los diferentes parásitos por intervalo de edad y periodo estudiado.

En el 2007 observamos que la *Giardia Lamblia* es el parásito predominante de 0-3 años (76,4%), 4-12 (62,8%). Mientras que el *Blastocystis Hominis* es el mayoritario (57,5%) en las edades comprendidas de 13-99 años.

Posteriormente en el 2008 encontramos que el parásito mayoritario es el *Blastocystis Hominis* (68,9%) en el intervalo de edad de 13-99 años, siendo la *Giardia Lamblia* de 4-12 (54%) y de 0-3 años (53%).

Conclusiones Comparando los dos años, hemos hallado que los parásitos mayoritarios son *Giardia Lamblia* y *Blastocystis Hominis* habiendo diferencias entre la edad pediátrica (0-12) y la adulta (13-99). En el 2007 existe mayor incidencia por *Giardia Lamblia*, así como en el 2008 es de *Blastocystis Hominis*.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 290

## CRIBAJE DE UROCULTIVOS EN EL ANALIZADOR SYSMEX UF-1000I

*Autor/a/s:* Saiz Patón Rosario, Mena Ruiz Mónica, Casillas Gonzalez Jessica, Torres Abreu Margarita, Garcia Miravet Dunia

*Centro de trabajo:* Laboratorio de diagnóstico clínico Bon Pastor

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* charosaiz@yahoo.es

### Objetivos:

Evaluación del analizador UF-100i(Roche) para cribaje de muestras de Urocultivo.

### MATERIAL Y METODOS:

Se analizaron 1185 orinas de primera micción. Las muestras se procesaron el mismo día de la recolección. Se realizó la siembra por método cuantitativo en placas con medio CPS3 (BioMérieux) y se incubaron en estufa a 37°C en atmósfera aerobia. La lectura de las placas se realizó a las 24h.

Las muestras se analizaron en Sysmex UF-1000i que determina la concentración de leucocitos, hematíes y bacterias en la orina.

### Resultados:

Los resultados de la siembra en medio cromogénico CPS3 fueron los siguientes: 353 positivos (29,8%), 155 contaminados (13%) y 677 negativos (57,1%).

Los resultados obtenidos comparando los valores dados por el analizador con los del cultivo son los siguientes.

Punto de corte (cut-off)

Bacterias	40	50	100
Sensibilidad	91.6	89	83.5
Especificidad	55.1	57.5	67.4

### Conclusiones:

En caso de establecer el cut-off en 40bct/µL, podrían dejar de sembrarse un 35% de los urocultivos y solo se producen un 3.5% de falsos negativos. Esto supondría una reducción importante en la carga de trabajo de la sección sin perder la calidad de los resultados del laboratorio.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 292

## (IDENTIFICAR EL INTERVALO NO FIABLE (ZONA GRIS) EN EL MÉTODO PCR (AMPLIFICADOR ROCHE ESPAÑA) PARA DETECCIÓN DE CLAMIDIA TRACHOMATIS

*Autor/a/s:* Campuzano Grau Yolanda, Romera Ramirez Montse, Garcia Miravet Dunia, Martín Palma Noemí, Mena Ruiz Monica

*Centro de trabajo:* Laboratorio de diagnóstico clínico Bon Pastor

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* nyna34@hotmail.com

### Introducción:

El método de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un método de biología molecular (no a tiempo real) que utiliza sondas específicas (primers) complementarias a los ácidos nucleicos del microorganismo que se quiere detectar en la muestra. Después de diferentes fases como la amplificación y la detección, se realiza la lectura que en esta técnica es por colorimetría.

### Objetivo:

Estudiar los puntos de corte e intervalo no fiable o zona gris que pueden establecer la sensibilidad y especificidad diagnóstica del procedimiento. Los valores de lectura colorimétrica del método determinaran la presencia o ausencia en la muestra clínica de *C. trachomatis*.

## Materiales y Métodos:

Se realiza un estudio de reproductibilidad con 117 muestras clínicas de frotis uretrales y frotis endocervicales recibidas en el laboratorio durante el año 2011.

Se analizan por método PCR AMPLICOR ROCHE ESPAÑA.

Se clasifican los resultados tanto positivos como negativos para poder definir el intervalo de confianza

Se realiza el estudio de reproductibilidad de 100 controles de calidad de Kit de diagnóstico para resultado positivo y negativo a *C. trachomatis* en condiciones de rutina.

## Resultados:

*Chlamydia trachomatis*

	Media de las lecturas	Intervalo de confianza
Control positivo	3.938	3.851 ÷ 4.025
Control negativo	0.002	0.003 ÷ 0.001
Muestras positivas	3.0726	2.3337 ÷ 3.8115
Muestras negativas	0.0051	-0.0091 ÷ 0.0193

Aplicando el método de comparación de medias conseguimos el resultado de:  $t=34.282$  ( $P<0.0001$ ) por lo que las diferencias son significativas y la zona gris o intervalo no fiable se encuentra entre 0'0193 i 2'3337.

## Conclusiones:

Los resultados analíticos para el método PCR Amplicor Roche España para *Chlamydia trachomatis* que estén entre la zona gris o intervalo no fiable (0'0193 y 2'3337) no pueden ser interpretados con presencia o ausencia del microorganismo estudiado.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 298

## INCIDENCIA HEPATITIS E EN UN HOSPITAL DE NIVEL 3 DE BARCELONA

*Autor/a/s:* CAPON LOPEZ, ALICIA. CERVILLA ROMAN, ANA. RODRIGUEZ RUBIO, CRISTINA. MUÑOZ PRIEGO, PILAR. COSTA CAMPS, JOSEP.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL CLINIC BARCELONA

*Provincia:* BARCELONA

*Correo electrónico del primer firmante:* [acaponlopez@yahoo.es](mailto:acaponlopez@yahoo.es)

## Introducción:

El virus de la hepatitis E (VHE) es un virus de transmisión entérica del que se han descrito 4 genotipos. Los genotipos 1 y 2 infectan exclusivamente a humanos ocasionando epidemias y casos esporádicos de hepatitis aguda en regiones tropicales y subtropicales del Tercer Mundo, especialmente África y Asia. Los genotipos 3 y 4 son considerados una zoonosis y ocasionan cuadros esporádicos de hepatitis aguda en regiones desarrolladas como Europa, Norteamérica, Australia o Japón. En estas regiones, se ha observado, en los últimos años, un creciente aumento de casos tanto importados como autóctonos. Además recientemente se han descrito en personas inmunodeprimidas, sobretodo en transplantados, episodios de hepatitis E crónica, que en algunos casos ha evolucionado rápidamente a cirrosis hepática.

## Objetivo:

El objetivo de este estudio es investigar la incidencia de hepatitis E en un hospital de tercer nivel del área de Barcelona.

## Pacientes:

Se han estudiado 140 muestras de 121 pacientes consecutivos atendidos durante el año 2011 en diversos servicios del Hospital Clínic de Barcelona: 62 muestras (44 %) procedían de la Unidad de Transplante Hepático, 35 (25 %) del servicio de Hepatología, 10 (7 %) de Enfermedades Infecciosas, 9 (6 %) de Salud Internacional y 24 (18 %) de diversos Servicios del Hospital.

## Métodos:

En todas las muestras se investigó la presencia de anticuerpos IgG contra el VHE (IgG anti-VHE) mediante el ensayo Bioelisa HVE IgG (Biokit) y de RNA del virus mediante nested RT-PCR con primers de la región ORF2/3. En las muestras anti-VHE positivas se confirmó el resultado con un segundo ensayo (RecomWell HEV IgG de Microgen) y se investigó la presencia de anticuerpos IgM (RecomWell HEV IgM de Microgen).

## Resultados:

Se confirmó la presencia de IgG anti-VHE en alguna muestra de 9 (7,4 %) pacientes (otros 3 casos fueron considerados falsos positivos). Tres de los casos fueron considerados como infección pasada por la ausencia de IgM anti-VHE y/o RNA-VHE. Se catalogaron 6 (4,9 %) casos como hepatitis aguda por la presencia de IgM anti-VHE y/o de RNA del virus: cuatro pacientes habían viajado recientemente a regiones endémicas mientras que los otros dos casos, eran de origen autóctono en personas con transplante hepático.

## Conclusiones:

La incidencia de nuevos casos de hepatitis E en este estudio fue de 4,9 %. La identificación de casos autóctonos en pacientes transplantados sugiere la conveniencia de establecer métodos sistemáticos para identificar a los pacientes infectados.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 300

## DETERMINACIÓN DE LA COLONIZACIÓN POR STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE MEDIANTE UNA TÉCNICA INMUNOCROMATOGRAFICA

*Autor/a/s:* AMALIA MORALES SOLANA, FRANCISCA LOMAS LÓPEZ, ANA FLOR NAVARRO PLAZA, JULIAN TEBAR SALAZAR, ANA MARÍA GARCÍA ROJO

*Centro de trabajo:* HOSPITAL GENERAL TOMELLOSO

*Provincia:* CIUDAD REAL

*Correo electrónico del primer firmante:* [amaliamoralesolana@hotmail.com](mailto:amaliamoralesolana@hotmail.com)

## Introducción:

*Streptococcus pneumoniae* constituye la principal causa de neumonía adquirida en la comunidad. La falta de un diagnóstico rápido puede dar lugar a bacteriemia, endocarditis, pericarditis, enfisema, meningitis, púrpura fulminante y/o artritis con un índice de mortalidad de hasta el 30% en función de distintos factores de riesgo como las edades extremas de la vida o enfermedades subyacentes, especialmente la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).

## Objetivo:

El objetivo de nuestro estudio ha sido determinar el estado de portador de *S. pneumoniae* en pacientes del Área Sanitaria del Hospital de Tomelloso (Ciudad Real) mediante una técnica inmunocromatográfica.

## Material y Métodos:

Se estudiaron 60 muestras de esputo procedentes del mismo número de pacientes recibidas en el Laboratorio de Microbiología de nuestro hospital desde diciembre de 2011 a enero de 2012. Previo a su procesamiento mediante la técnica de inmunocromatografía BinaxNOW (Inverness Medical, Suecia), aprobada para la detección cualitativa de antígeno de *S. pneumoniae* en orina y LCR, se mezclaron 0,5 ml de muestra con 0,5 ml de suero fisiológico y tres perlas de vidrio en cada vial. Posteriormente las diluciones se vortearon durante 10 segundos para lisar los esputos y se procedió a la realización de la técnica siguiendo las instrucciones del fabricante. La positividad del test se establece por la aparición de una línea de coloración rosa violeta. Paralelamente los esputos se cultivaron en agar Columbia (Soria Melguizo, España) con disco de optoquina para el aislamiento de colonias de *S. pneumoniae*.

## Resultados:

Los pacientes estudiados fueron en su mayoría atendidos en los Servicios de Neumología y Medicina Interna, 28 de origen ambulatorio y 32 hospitalizados. En 48 de los pacientes estudiados (80,0%) se aisló *S. pneumoniae* en el cultivo microbiológico. Estos mismos pacientes resultaron igualmente positivos mediante la técnica inmunocromatográfica, el 100% de los ambulatorios y 23 (71,9%) de los hospitalizados.

## Conclusiones:

La colonización fue mayor en los pacientes ambulatorios, lo que pudo deberse a que los hospitalizados estaban siguiendo algún tratamiento antibiótico. El nivel de colonización resultó elevado en ambos grupos. La técnica de inmunocromatografía presentó buena correlación con la detección en cultivo. Aunque este método no es útil para el diagnóstico de neumonía por *S. pneumoniae*, sí podría emplearse para la detección de portadores de esta bacteria en pacientes de riesgo.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 301

## DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DEL CITOMEGALOVIRUS EN LA INFECCION PULMONAR

*Autor/a/s:* CERVILLA ROMAN, ANA. CAPON LOPEZ, ALICIA. RODRIGUEZ RUBIO, CRISTINA. MUÑOZ MONASTERIO, CONSUELO. MARCOS MAESO, M<sup>a</sup> ANGELES

*Centro de trabajo:* HOSPITAL CLINIC BARCELONA

*Provincia:* BARCELONA

*Correo electrónico del primer firmante:* [anamcroman@gmail.com](mailto:anamcroman@gmail.com)

## Introducción:

La infección pulmonar por citomegalovirus (CMV) es una complicación frecuente y grave fundamentalmente en el paciente inmunodeprimido. El pronóstico en estos pacientes dependerá en gran medida de la realización de un diagnóstico microbiológico sensible y lo más precoz posible.

El cultivo celular ha sido el método de referencia en el diagnóstico de CMV, sin embargo es un método largo, laborioso y de sensibilidad limitada. En los últimos años, la introducción de las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha cambiado espectacularmente el enfoque en el manejo de la infección por CMV.

#### Objetivos:

Valoración de las técnicas de cultivo celular y de PCR a tiempo real, en el diagnóstico de la infección pulmonar por CMV.

#### Materiales y Métodos:

Se analizaron los lavados broncoalveolares (BAL) de pacientes ingresados en el Hospital Clínic durante el año 2011, a los que se les había realizado cultivo celular y PCR. Para el cultivo se utilizó la línea celular MRC-5 y se mantuvo durante 3 semanas; el crecimiento del virus se comprobó mediante la observación de efecto citopático y detección de fluorescencia con la utilización de anticuerpos monoclonales (Monofluo Kit CMV, BioRad). En las muestras incluidas se realizó extracción genómica automatizada (EasyMag, Biomerieux) y posteriormente se procesaron mediante PCR a tiempo real para detección de CMV (Real-time Alert Q-PCR, Nanogen).

#### Resultados:

Se incluyeron 56 muestras de BAL pertenecientes a 56 pacientes. Cuarenta y dos muestras (75%) fueron negativas tanto por cultivo como por PCR, 7 (12.5%) fueron positivas en el cultivo y en la PCR, 7 (12.5%) fueron positivas sólo en la PCR y ninguna muestra fue positiva exclusivamente en el cultivo. Esto representa un aumento de detección de CMV de un 12.5% mediante la técnica de PCR. Con esta técnica se pudo dar un resultado el mismo día de la recepción de la muestra, sin embargo el tiempo de respuesta con el cultivo celular fue de 13 días.

#### Conclusiones:

La técnica de PCR nos ha permitido hacer un diagnóstico de la infección por CMV más sensible y rápida respecto al cultivo, lo cual tiene una importancia crucial en el manejo de los pacientes graves.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 302**

### ESTUDIO COMPARATIVO DE DOS MEDIOS CROMOGENICOS PARA EL AISLAMIENTO DE SARM

*Autor/a/s:* JULIÁN TEBAR SALAZAR, ANA FLOR NAVARRO PLAZA, AMALIA MORALES SOLANA, FRANCISCA LOMAS LÓPEZ, ANA MARÍA GARCÍA ROJO

*Centro de trabajo:* HOSPITAL GENERAL DE TOMELLOSO

*Provincia:* CIUDAD REAL

*Correo electrónico del primer firmante:* jtebarsala@hotmail.com

#### Introducción:

*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) es el agente etiológico de múltiples infecciones, entre otras, bacteriemia, endocarditis, infección de piel y tejidos blandos, del SNC o del tracto genitourinario. Su importancia radica en las escasas opciones farmacológicas que existen para su tratamiento ya que, además de ser resistente a los betalactámicos, a menudo asocia resistencia a otros grupos de antibióticos. La rápida identificación de los individuos colonizados, especialmente pacientes hospitalizados o sujetos institucionalizados, permite disminuir la propagación de esta superbacteria.

#### Objetivo:

El objetivo de nuestro estudio ha sido comparar la capacidad de detección de SARM de dos medios de cultivo cromogénicos de distintas casas comerciales.

#### Material y Métodos:

Se ensayaron 62 cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de pacientes del Área Sanitaria del Hospital General de Tomelloso, que habían sido incluidos en el programa de vigilancia de SARM. Las cepas se cultivaron en los medios chromID MRSA (bioMérieux, Francia) y Brilliance MRSA agar (Oxoid ThermoFisher, Reino Unido) y se incubaron a 37°C en atmósfera aerobia durante 48 horas. Se realizó lectura de los cultivos a las 24 y 48 horas de manera definitiva. Según las fichas técnicas de los productos, las colonias compatibles con SARM crecen de color verde en el medio chromID MRSA debido a la producción de alfa-glucosidasa y a la presencia de cefoxitina, y en el medio Brilliance MRSA agar crecen de color azul vaquero por la presencia de fosfatasa y de un nuevo marcador que reemplaza a la cefoxitina. Todas las colonias se identificaron por el sistema automatizado Wider (Soria Melguizo, España) y se ensayó la CMI de oxacilina para determinar la resistencia a meticilina.

#### Resultados:

Del total de cepas estudiadas 43 fueron SARM (69,35%), 28 (65,12%) procedentes de pacientes hospitalizados y 15 (34,88%) de usuarios de residencias de mayores. El medio chromID MRSA identificó correctamente 35 cepas (81,39%), el diámetro de las colonias fue de >1 mm y la coloración verde aguamarina a las 24 horas de incubación, que viró a color manzana golden a las 48 horas. El medio Brilliance MRSA agar identificó el 100% de

las cepas estudiadas, las colonias fueron de 1 mm y de tonalidad azul vaquero a las 24 y 48 horas. Las colonias de *Staphylococcus aureus* sensibles a meticilina (SASM) aparecieron de color verde fluorescente y añil respectivamente.

#### Conclusiones:

La colonización fue mayor en los pacientes hospitalizados que en los usuarios de residencias de mayores. El medio Brilliance MRSA agar resultó ser más específico que el medio chromID MRSA, pero ambos fueron igual de sensibles y permitieron la identificación rápida en 24 horas de la bacteria.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 311**

### EVALUACIÓN DE UNA PRUEBA RÁPIDA PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IGG E IGM CONTRA EL VIRUS DENGUE

*Autor/a/s:* Irene Campo, Roser Ferre, M<sup>a</sup> Rosa Monte, Diego Martínez, Daniel Vilavella y Mikel Martínez

*Centro de trabajo:* Hospital Clínic de Barcelona (Servicio Microbiología)

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* irenecampo61@gmail.com

#### Introducción:

La incidencia de infecciones por el virus dengue ha aumentado de manera importante en las últimas décadas, pudiendo sobrepasar los 50 millones de infecciones por año en todo el mundo según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud. El potencial emergente de este virus hace que deban realizarse tareas de vigilancia para detectar su introducción en áreas hasta entonces libres de la enfermedad.

#### Objetivo:

El objetivo de este trabajo es evaluar un kit de detección rápida de anticuerpos de clase IgG e IgM (Standard Diagnostics) contra el virus dengue, utilizando la técnica de ELISA (PanBio) como método de referencia o gold standard.

#### Material y métodos:

Se seleccionaron 41 muestras con diferentes patrones serológicos frente al virus dengue de pacientes atendidos en nuestro hospital. Se realizaron los tests rápidos para la detección de anticuerpos contra dengue y la lectura se realizó por tres observadores distintos. El resultado del test rápido fue aquel resultado (positivo o negativo) obtenido por dos o más observadores. Los resultados se compararon con los datos obtenidos utilizando la técnica diagnóstica de referencia (ELISA).

#### Resultados y Conclusiones:

De las 41 muestras, 23 contenían anticuerpos de clase IgG y 15 anticuerpos IgM detectables por ELISA. Los resultados de la prueba rápida al compararla con la prueba de referencia fueron:

- Para la detección de IgG. Sensibilidad:60,9%, Especificidad: 100%, Valor predictivo positivo: 100%, Valor predictivo negativo: 66,7%

- Para la detección de IgM: Sensibilidad:93,3%, Especificidad: 100%, Valor predictivo positivo: 100%, Valor predictivo negativo: 96,3%

En dos muestras positivas, uno de los observadores dio un resultado negativo a causa de la débil intensidad de la reacción. En conclusión, la prueba de detección rápida evaluada presenta mejores valores de detección para anticuerpos IgM que para anticuerpos IgG. Esto indica que puede ser de ayuda para el diagnóstico de infecciones recientes por el virus dengue, sobre todo en áreas donde no se dispone de la capacidad necesaria para realizar pruebas de referencia. El testaje de un mayor número de muestras ayudará a valorar de manera más precisa la utilidad de la prueba rápida para detección de anticuerpos contra el virus dengue en nuestro hospital.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 312**

### DIAGNÓSTICO DE PALUDISMO. EVALUACIÓN DE LA INMUNOCROMATOGRAFÍA Y LA PCR FRENTE A LA MICROSCOPIA EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL.

*Autor/a/s:* Ferré Roser, Vilavella Daniel, Campo Irene, Monte M<sup>a</sup> Rosa, Álvarez Miriam, Mas Jordi, Valls M<sup>a</sup> Eugenia, Costa Josep, Pardos Josefina.

*Centro de trabajo:* Hospital Clínic de Barcelona (Servicio Microbiología)

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* iuse.terre@ono.com

#### Introducción:

La microscopía es la técnica de referencia en el diagnóstico de paludismo, sin embargo su sensibilidad depende de la experiencia del microscopista. Por ese motivo, proponemos la evaluación de nuevos métodos diagnósticos.

## Objetivo:

Comparar la sensibilidad y especificidad de la inmunocromatografía (ICT) y la PCR, frente a la microscopía.

## Material y Métodos:

Se seleccionaron 60 pacientes con sospecha de paludismo entre febrero-2006 y noviembre-2007. Se utilizó la microscopía como técnica de referencia: 30 resultaron positivos (77% P. falciparum, 10% P. vivax, 10% P. ovale, 3% P. malariae) y 30 negativos. La ICT (BINAX NOW®) y la PCR se realizaron en ambos grupos.

## Resultados:

De los 60 pacientes (60% varones, edad media 36 años), 33% eran originarios de zonas endémicas de paludismo y 67% viajeros. Procedían de África Subsahariana (77%), Latinoamérica (14%), Subcontinente Indio (7%) y Sudeste asiático (2%). Los valores de sensibilidad (S) y especificidad (E) de la ICT y la PCR, respecto de la microscopía, fueron: ICT (S=90%, E=97%); PCR (S=97%, E=97%). Los falsos negativos de la ICT correspondieron a 2 pacientes diagnosticados de Plasmodium ovale por microscopía y PCR, y a un tercero diagnosticado de Plasmodium falciparum (parasitación 0.008%), también negativo para PCR. La ICT y PCR fueron positivas en un paciente microscópicamente negativo en tratamiento antipalúdico previo.

## Conclusiones:

La ICT muestra una sensibilidad disminuida para Plasmodium no falciparum, sin embargo, la PCR presenta resultados superponibles a la microscopía. Tanto la ICT como la PCR pueden complementar el diagnóstico de paludismo en el caso de microscopistas poco experimentados.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 319

## DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE VIRUS RESPIRATORIOS EN NIÑOS

*Autor/a/s:* Velázquez Miranda, Dolores; Suárez Santana, Dolores J.; Guerra Roger, Rosa María; Montesdeoca Molina, Dunia; Pérez González, M<sup>a</sup> Carmen; Florén Zabala, Laura.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín

*Provincia:* Las Palmas

*Correo electrónico del primer firmante:* lolivm@yahoo.es

## Introducción/Objetivo:

Las infecciones respiratorias agudas de origen vírico son una causa frecuente de consulta y hospitalización pediátrica.

El objetivo del presente estudio fue analizar los resultados obtenidos con la técnica CLART® PnuemoVir, capaz de detectar y caracterizar la presencia de los 19 tipos y subtipos más frecuentes de virus humanos que causan infecciones respiratorias.

## Métodos:

Desde mayo de 2010 hasta marzo de 2011 se analizaron las muestras respiratorias de niños menores de 14 años atendidos en el Hospital Materno Infantil de la isla de Gran Canaria. En aquellos pacientes en los que la detección de antígeno de virus respiratorio sincitial (VRS) (BD Directigen TM EZ RSV) fue negativa, se extrajo el material genómico mediante NucliSENS® easyMag. Se realizó la técnica de detección de virus respiratorios CLART® PnuemoVir que consiste en la amplificación por RT-PCR de los fragmentos específicos de los genomas víricos y la posterior hibridación en una plataforma de microarrays. Esta técnica permite analizar simultáneamente los siguientes virus: Adenovirus; Bocavirus; Coronavirus; Enterovirus (Echovirus); Influenza virus A (subtipos H3N2 humano, H1N1 humano, B, C y H1N1/2009); Metapneumovirus (subtipos A y B); Parainfluenza virus 1, 2, 3, y 4 (subtipos A y B); Rhinovirus; Virus Sincitial Respiratorio tipo A (VSR-A); Virus Sincitial Respiratorio tipo B (VSR-B).

## Resultados:

En el periodo de estudio se analizaron 228 muestras, 165 (71,9%) resultaron positivas para uno o más virus respiratorios. El 25,9% (n=59) fueron negativas y el 2,2% (n=5) no pudieron ser analizadas ya que presentaban inhibidores de la amplificación.

En 119 muestras se detectó un único agente causal: Rhinovirus (n=45; 37,8%), Parainfluenza (n=26; 21,9%), Metapneumovirus (n=16; 13,4%), Bocavirus (n=11; 9,3%), VRS (n=8; 6,7%), Enterovirus (n=7; 5,9%), Influenza (n=3; 2,5%) y Adenovirus (n=3; 2,5%). Se detectó más de un virus en 45 (26,6%) muestras.

## Conclusiones:

1. Esta técnica permitió el diagnóstico etiológico en un alto porcentaje de las muestras analizadas.
2. En este grupo de pacientes con diagnóstico negativo para VRS mediante técnica de detección de antígeno, los Rhinovirus fueron los virus respiratorios más frecuentemente diagnosticados.
3. La detección de coinfecciones fue frecuente.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 323

## SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE LOS STAPHYLOCOCCUS COAGULASA NEGATIVO FRENTE AL LINEZOLID.

*Autor/a/s:* Antomil Antuña Natalia, Lucea Parejo Yolanda, Ruiz Modrego Ana Cristina, Palacian Ruiz Pilar, Ferrer Cerón Isabel

*Centro de trabajo:* H.U. Miguel Servet

*Provincia:* Zaragoza

*Correo electrónico del primer firmante:* nantomil@yahoo.es

## Introducción:

Los Staphylococcus coagulasa negativos (SCN) están implicados en la aparición de bacteriemia en pacientes hospitalizados, especialmente en su relación con catéteres, prótesis óseas y marcapasos.

## Objetivo:

El objetivo es el estudio de la sensibilidad antibiótica de SCN frente al linezolid.

## Materiales y Métodos:

Se han estudiado las cepas de SCN aisladas en el Servicio de Microbiología del Hospital Miguel Servet durante el período 01-01-2011 a 31-12-2011. Se ha analizado la sensibilidad antimicrobiana mediante el sistema de microdilución MicroScan® (Siemens). La resistencia al linezolid se confirmó mediante E-test® (Biomérieux).

## Resultados:

Durante el período estudiado, se han aislado 4180 Staphylococcus pertenecientes a 2602 pacientes.

Se aislaron 124 cepas de SCN con resistencia al linezolid (CMI > 4).

La especie aislada más frecuente fue S.epidermidis en un 75% (n=93). Las otras especies fueron: S.aureus (n=1), S.capitis subsp. ureolyticus (n=2), S. cohnii subsp. cohnii (n=4), S. haemolyticus (n=1), S.hominis subsp. hominis (n=6), S. hominis subsp. novobiosepticum (n=1), S.intermedius (n=2), S.lugdunensis (n=1), S.saprophyticus (n=1), S. schleiferi subsp. coagulans (n=1), S.sciuri (n=7), S.simulans (n=2) y S.xylophilus (n=2).

Las muestras en las que se aislaron procedían de hemocultivos en un 45,2% (n=56), catéteres en el 22,5% (n=28) y LCR procedentes de derivación en un 7,2% (n=9).

El resto de aislados procedían de orina (n=11), muestras respiratorias (n=11), exudados/heridas (n=6) y biopsias (n=3).

De estos, en 116 se halló una resistencia conjunta a oxacilina. La daptomicina fue sensible en todos los casos testados.

## Conclusiones:

No se ha aislado ningún S.aureus con resistencia al linezolid.

La resistencia al linezolid en SCN es de un 2,96%.

La especie más frecuente aislada en clínica es S.epidermidis.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 324

## POSIBLE RELACIÓN ENTRE LOS STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A METICILINA (SARM) TETRACILINA RESISTENTE Y EL CONTACTO CON ANIMALES.

*Autor/a/s:* Antomil Antuña Natalia, Ruiz Modrego Ana Cristina, Lucea Parejo Yolanda, Palacian Ruiz Pilar, Ferrer Cerón Isabel

*Centro de trabajo:* H.U. Miguel Servet

*Provincia:* Zaragoza

*Correo electrónico del primer firmante:* nantomil@yahoo.es

## Introducción:

El Staphylococcus aureus es uno de los principales agentes patógenos en el ser humano. Se relaciona con infecciones de piel y partes blandas, bacteriemias e infecciones quirúrgicas. Dentro de este grupo, los S. aureus resistentes a meticilina (SARM) tienen una gran importancia desde el punto de vista epidemiológico. Un pequeño porcentaje de los SARM presentan resistencia a tetraciclina que se ha relacionado en la bibliografía con el contacto con animales.

## Objetivo:

El objetivo de este estudio es conocer, en nuestro medio, la incidencia de SARM tetraciclina resistente y la probabilidad de contacto previo del paciente con animales.

**Materiales y Métodos:**

Se han estudiado las cepas de *S.aureus* aisladas en el Servicio de Microbiología del Hospital Miguel Servet durante el período 01-03-2011 a 31-01-2012. Se ha analizado la sensibilidad antimicrobiana mediante el sistema de microdilución MicroScan® (Siemens).

**Resultados:**

Durante el período estudiado, se han aislado *S.aureus* en 1375 pacientes, de los que 327 fueron SARM (27.05%). 42 de los SARM aislados fueron tetraciclina resistente (11.29%).

Las cepas SARM tetraciclina resistentes presentaron también resistencias a los siguientes antibióticos: macrólidos (72.2%), lincosamidas (72.2%), quinolonas (44.4%), aminoglucósidos (27.8%), mupirocina (11.1%) y trimetoprim (5.6%).

En 19 de estos pacientes se identificó relación laboral o contacto con animales de granja, se estableció relación con animales de compañía en dos pacientes y en el resto de casos no se pudo obtener esta información.

**Conclusiones:**

Un elevado porcentaje de pacientes con SARM resistentes a la tetraciclina tenían contacto con animales de granja (cerdos o pollos).

**ESTUDIO DE STREPTOCOCCUS AGALACTIAE EN EMBARAZADAS DE BARCELONA**

*Autor/a/s:* Sònia Sisó Ros, Francècs Sisó Ros, Carmen Esther Garcia Miravet, Dunia Garcia Miravet, Nieves Gonzalez Rodriguez

*Centro de trabajo:* Hospital Vall D'Hebron

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* soniasisor@hotmail.com

**Introducción:**

El *Streptococcus agalactiae* EGB es una bacteria estreptococo, gram-positivo, beta-hemolítico, catalasa negativo, oxidasa negativo y anaerobio facultativo. Se puede encontrar en el aparato digestivo, urinario y genital de los adultos. Aunque una infección por EGB normalmente no ocasiona problemas a las mujeres sanas antes del embarazo, puede provocar una enfermedad grave a la madre y al bebé durante la gestación y después del parto.

La prevención de la sepsis neonatal por *Streptococcus agalactiae* requiere de la detección de la colonización vaginal y rectal en la gestante; ésta puede ser transitoria y por tanto es importante que el cribaje sea muy próximo a la fecha del parto. (35-37 semanas de gestación)

**Objetivo:**

Nuestro principal objetivo es conocer hasta qué punto es importante el cribaje de las muestras en escobillón con medio de transporte de muestra anal y vaginal en mujeres cuando están en el 3er trimestre de embarazo para la prevención de la sepsis neonatal.

**Materiales y Métodos:**

2956 frotis vaginales y 2956 frotis rectales.

Medio cromogénico de Granada (Biomédicos)

Medio de Gardnerella (Biomérieux).

Los aislamientos sospechosos de EGB se confirman por tipaje Phadecbac Strep B test (Bactus Sweden).

Una estufa CO<sub>2</sub>.

Asas estériles para la siembra

**Resultados:**

Durante el año 2010 se estudian 2956 embarazadas. Se ha aislado EGB en frotis vaginal y rectal conjuntamente en 578 mujeres, sólo en frotis vaginal se ha aislado a 434 y sólo en frotis rectal a 144.

Esto indica que en nuestra población hay una tasa de colonización del 19'55% por *Streptococcus agalactiae* y si solamente se recomendara en frotis vaginal como única muestra a analizar, sería del 14,68%, por lo tanto el frotis rectal aporta un incremento de detección del 24,9%.

**Conclusiones:**

El protocolo del cribaje para la prevención de la sepsis neonatal por EGB precisa y requiere estudiar las 2 muestras descritas (vaginal y rectal) ya que esta práctica incrementa en casi un 25% su detección.

Es importante utilizar medios selectivos y cromogénicos para la fácil detección de *Streptococcus agalactiae*.

Vale la pena mejorar la vigilancia de las resistencias en nuestro medio al *Streptococcus agalactiae*.

**ENFERMEDAD DE CHAGAS EN GESTANTES LATINOAMERICANAS DEL ÁREA DE BARCELONA. RESULTADOS DE LA IMPLEMENTACIÓN DEL PROTOCOLO DE CRIBADO (2010-2011).**

*Autor/a/s:* Elisabeth Castro González, Cristina Fernández Fernández, Montse Graells Verdes, Carmen Romero Gutierrez, Gaietana Jimenez Serra.

*Centro de trabajo:* Laboratori Clínic Territorial Metropolitana Sud Barcelona  
Localidad: L'Hospitalet de Llobregat

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* elisabeth.c07@hotmail.es)

**Introducción:**

La enfermedad de Chagas, también denominada tripanosomiasis americana, es una infección ocasionada por un protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*. Se transmite principalmente por medio de insectos hematófagos (triatominos) los cuales eliminan el parásito cuando defecan después de picar. También se puede transmitir por transfusión de sangre, ingesta de alimentos contaminados y de la madre al feto. Aunque es asintomática en el 60% de los casos, puede ocasionar lesiones cardíacas, digestivas y del sistema nervioso central.

Es una enfermedad endémica de América Latina y se estima que están infectados 8 millones de personas, provocando alrededor 50.000 muertes/año. Debido al flujo migratorio que ha tenido lugar en los últimos años, esta enfermedad, antes restringida a Latinoamérica, pueden padecerla personas que viven en nuestro país, procedentes de ésta zona geográfica.

El riesgo de transmisión vertical de las mujeres embarazadas representa un nuevo reto en salud pública debido a que en España ya han sido descritos los primeros casos de Chagas congénito. En 2010 se ha introducido el diagnóstico de la infección por *T. cruzi* en gestantes procedentes de Latinoamérica en el cribado serológico del embarazo en Cataluña.

**Objetivo:**

Conocer los resultados de los dos primeros años de aplicación del cribado serológico de enfermedad de Chagas en mujeres embarazadas procedentes de Latinoamérica, residentes en el área metropolitana sur de Barcelona.

**Materiales y Métodos:**

El Laboratori Clínic de L'Hospitalet (Institut Català de la Salut) del área metropolitana sur de Barcelona, atiende a una población de alrededor de 700.000 habitantes, con un 5,6% de población Latinoamericana.

El período de estudio comprende desde Mayo del 2010 a Diciembre del 2011. Se realizó la prueba de anticuerpos contra *T. cruzi* a las mujeres Latinoamericanas que acudieron al sistema público de salud. La técnica de cribado utilizada fue un Enzimo Inmuno Ensayo recombinante (r-EIA Bielsa Chagas Biokit®) que utiliza antígenos de cuatro epítomos inmunodominantes de *T. cruzi*. Los sueros positivos se confirmaron con una segunda técnica, un EIA nativo (n-EIA, Ortho® *T. cruzi* Elisa Test System) que utiliza un lisado completo de *T. cruzi*. La sensibilidad y especificidad de ambos métodos era superior al 95% según las especificaciones de los fabricantes. En caso de discordancia se hizo la técnica de Western-Blot, que utiliza un lisado de epimastigotes de *T. cruzi* (cepa Maracay). Se consideraron positivos por Western-Blot aquellos sueros que presentaban cinco bandas reconocidas en el control (28, 32, 38, 39, 40 y 48 kDa), indeterminados cuando se presentaban de una a cuatro bandas y negativos en el caso de no presentar ninguna banda.

**Resultados:**

De las 2259 mujeres embarazadas estudiadas 61 eran positivas por dos técnicas. Hubo un caso que posteriormente se observó que era un falso positivo y 3 discordantes (r-EIA positivo/n-EIA negativo), que fueron negativos por la técnica confirmatoria de Western-Blot. Así, la prevalencia de enfermedad de Chagas fue del 2.7% (60/2259).

En relación a los países de origen, la mayoría de las embarazadas estudiadas provenían de Ecuador, Bolivia y Colombia. Sin embargo, de las 60 mujeres infectadas, 58 (95%), eran bolivianas una de Paraguay y otra de Ecuador.

**Conclusiones:**

En nuestra población hay mujeres embarazadas con enfermedad de Chagas, que se pueden diagnosticar mediante la realización de un test serológico de cribado durante el embarazo, de las mujeres originarias de áreas endémicas.

Hay una buena concordancia de las técnicas utilizadas de EIA recombinante y nativo.

Es importante identificar a las mujeres embarazadas infectadas por *T. cruzi* para realizar un diagnóstico precoz y tratamiento de los niños con enfermedad de Chagas congénita.

**INFECCIÓN AGUDA POR HIV EN BARCELONA**

*Autor/a/s:* Elisabeth Castro González, Cristina Fernández Fernández, Montse Graells Verdes, Carmen Romero Gutierrez, Remedios Moreno Martínez, Eva Dopico Ponte.

*Centro de trabajo:* Laboratori Clínic Territorial Metropolitana Sud Barcelona-Laboratori Clínic L'Hospitalet

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* elisabeth.c07@hotmail.es

**Introducción:**

La infección aguda por virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) cursa con un cuadro clínico semejante a la mononucleosis infecciosa en al menos la mitad de los pacientes. La sospecha clínica y el adecuado diagnóstico de laboratorio son muy importantes, tanto para el tratamiento precoz de la infección, como para la prevención de la transmisión sexual, ya que las personas recién infectadas son altamente contagiosas debido a las elevadas cargas virales presentes en la sangre y los fluidos corporales. En relación al diagnóstico de laboratorio se debe tener en cuenta que los anticuerpos (Ac) anti-HIV no se detectan hasta la primera o segunda semana después del inicio de los síntomas y que la técnica confirmatoria de Western-Blot puede ser negativa o indeterminada

**Objetivo:**

Describir las características de los pacientes con primoinfección por el VIH.

**Materiales y Métodos:**

En Laboratori Clínic L'Hospitalet ( Institut Català de la Salut), que atiende a una población de alrededor de 700.000 habitantes, se realizaron, entre los años 2009–2011, 78.019 determinaciones de Ac anti-HIV mediante la técnica de E.I.A de Quimioluminiscencia (Vitros 3600®, Ortho-Clinical Diagnostics). A los sueros con resultados cercanos al cut-off se les hizo la técnica ELFA (Vidas® Hiv Duo Quick), que determina, además de Ac anti-VIH, el Antígeno P 24. Como prueba confirmatoria se utilizó el Western-Blot (Bioblot HIV-1 plus, Biokit®) que detecta Ac anti-HIV-1 y a la vez sirve de cribado para el HIV-2.

**Resultados:**

Se diagnosticaron 12 casos de infección aguda o reciente, cuyas características se exponen en la tabla

PACIENTE	SEXO	EDAD	PROCEDENCIA	SINTOMAS	EMBARAZO	AcVIH EIA	Ac. VIH Western-Blot	Carga viral VIH1	Ac HIV2
1	M	30	Subsahariana	NO	SI	P	Indeterminado	406567	
2	M	46	Latinoamericana	SI	NO	IND	Indeterminado (banda HIV-2)	<40	P
3	M	67	España	SI	NO	P	Positivo	4544565	
4	M	23	Latinoamericana	NO	SI	P	Positivo	77602	
5	M	39	España	SI	NO	P	Positivo Débil	24099	
6	H	42	Latinoamericana	NO		P	Positivo Débil	3410944	
7	H	41	España	SI		P	Positivo Débil	>10000000	
8	H	26	España	SI		P	Negativo	>10000000	
9	H	57	España	SI		P	Indeterminado	54712	
10	H	36	Latinoamericana	SI		P	Positivo	405199	
11	H	31	España	SI		P	Positivo	254201	
12	H	53	Latinoamericana	SI		P	Positivo	124219	

**Conclusiones:**

Es posible el diagnóstico de la infección aguda por VIH si hay sospecha clínica y unas técnicas de laboratorio adecuadas.

**ESTUDIO DEL RENDIMIENTO DE LAS TÉCNICAS RÁPIDAS PARA LA DETECCIÓN DE LEGIONELLA PNEUMONIAE Y NEUMOCOCCO EN EL HOSPITAL PUERTA DE HIERRO DE MAJADAHONDA**

*Autor/a/s:* Ramos Sierra Leticia, Gómez Martínez María Elisa, Martín Villarrubia Palmira, Hernández Díaz Mario, Colorado Toro Esperanza, Sánchez Romero María Isabel.

**Introducción:**

La neumonía comunitaria representa uno de los principales motivos de consulta en los servicios de urgencias, tanto en atención primaria como en especializada. Los patógenos principales implicados en esta patología son Legionella pneumophila y Streptococcus pneumoniae. Para un diagnóstico rápido de esta infección respiratoria se utilizan las pruebas de detección de antígenos en orina.

**Objetivos:**

Estudiar la rentabilidad de las técnicas rápidas de antigenuria para Neumococo y Legionella pneumophila en el Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, donde se piden ambas determinaciones de rutina.

**Material y Métodos:**

El tipo de muestra utilizado para esta prueba fue orina. Se procesaron 3809 muestras de orina de pacientes ingresados o atendidos en el servicio de Urgencias durante los años comprendidos entre 2009 y 2011. La técnica utilizada para ambas determinaciones fue BinaxNow® para Streptococcus pneumoniae y Legionella pneumophila. Las dos técnicas son ensayos inmunocromatográficos de membrana utilizados para detectar antígeno soluble en orina.

**Resultados:**

El total de las muestras estudiadas fueron 3809 correspondientes 1632(42,8%) a mujeres y 2177(57,2%) a hombres, de las cuales 3791(99,5%) son negativas para L. pneumophila y 3483 fueron negativas (91,4%) para Neumococo. De las muestras positivas, el mayor porcentaje de positividad se obtuvo para Neumococo con 326 (8,5%) muestras positivas, las muestras positivas para Legionella pneumophila sólo fueron 18 (0,4%). La mayoría de las muestras 2227(58,5%) procedían de Urgencias, 1548(40,6%) del área de Hospitalización y 34 (0,9%) del área de consultas externas.

**Conclusiones:**

- Son técnicas rápidas, sencillas y de fácil manejo e interpretación.
- Obtuvimos un 0,4% de positivos para Legionella pneumophila, una incidencia baja ya conocida en la Comunidad de Madrid en comparación con otras comunidades.
- Obtuvimos un 8,5% de positivos para Neumococo, la mayoría en pacientes mayores de 65 años.
- Un buen diagnóstico ayuda al clínico en la toma de decisiones y puede reducir el uso de otras pruebas complementarias y consumo de antibióticos, pero dada la baja incidencia de Legionelosis en la Comunidad de Madrid esta prueba debería solicitarse únicamente en aquellos casos en los que la epidemiología o la presencia de una neumonía atípica así lo requiera.
- En cualquier caso la técnica rápida no excluye la necesidad de realizar un cultivo de esputo y hemocultivo en un cuadro de sospecha de neumonía, porque un resultado negativo sugiere que no hay infección por Legionella pneumophila serogrupo 1, pero no descarta otras infecciones por Legionella producidas por otros serotipos diferentes al serogrupo 1 aunque son muy infrecuentes en nuestro medio.

**DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN POR CHLAMYDIA TRACHOMATIS MEDIANTE PCR EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DE HIERRO MAJADAHONDA.**

*Autor/a/s:* Ramos Sierra Leticia, Gómez Martínez María Elisa, Martín Villarrubia Palmira, Hernández Díaz Mario, Colorado Toro Esperanza, Portero Azorín María Francisca.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* leticia\_ramos\_sierra@hotmail.com

**Introducción:**

Las chlamydias son bacterias intracelular estricta. La infección por Chlamydia Trachomatis es la enfermedad de transmisión sexual bacteriana más común en todo el mundo. Sólo en Estados Unidos se estima que ocurren más de 4 millones de infecciones al año. Se transmite durante una relación sexual oral, vaginal o rectal sin protección. La gonorrea y otras infecciones transmitidas sexualmente pueden presentar los síntomas similares a una infección por Chlamydia Trachomatis, siendo frecuentes la coinfección.

**OBJETIVO:**

El objetivo de este estudio es determinar los factores de riesgo sociales y biológicos asociados a la infección por Chlamydia Trachomatis, con el fin de poder demostrar la necesidad de diagnóstico en nuestra población para la toma de medidas apropiadas de prevención y control.

## Material y Métodos:

Se estudiaron 1138 muestras (575 ex.endocervical, 488 ex. uretral y 75 orina) durante los años 2009,2010 y 2011.La prueba Cobas Taq Man CT (Roche) fue el método utilizado para este estudio. Dicha prueba se basa en dos procesos principales, el primero en la preparación manual de las muestras para obtener ADN de CT y el segundo en la amplificación simultánea por PCR del ADN mediante primers complementarios específicos.

## Resultados:

El resultado de las 1138 muestras fue positivo para 128 (11,2%),20 (1,8%) fueron nulos y el resto 990 (87%) fue negativo. De las 128 (11,2%) muestras positivas 34 (5,7 %) eran mujeres y el resto 94 (18%) hombres. La edad promedio de las mujeres fue 27 años y de los hombres 25 años. Con respecto a la procedencia de las peticiones un porcentaje bastante elevado (60%) proceden de Atención primaria, le sigue el servicio de Ginecología (22,7%) y el resto son del servicio de Medicina Interna, Urgencias y Urología. En el periodo de 2009,2010 y 2011 se observa un aumento de peticiones de un año a otro.

## Conclusiones:

- Recordar que es una enfermedad infecciosa y por eso la detección y el tratamiento es importante para así poder evitar el contagio, por lo que se debe estudiar la prevalencia de Chlamydia Trachomatis ante la sospecha de Enfermedades de Transmisión Sexual.
- Las peticiones en su mayoría fueron de Atención Primaria, siendo infecciones agudas.
- Las relaciones sexuales son iniciadas en edades tempranas aunque en nuestro medio la edad media fue de 25 y 27 años, frente a 15 años en países como Canadá y Estados Unidos, tal vez porque pacientes más jóvenes no acuden a consulta.
- En Estados Unidos la infección por Chlamydia Trachomatis es de declaración obligatoria y en España no, lo que hace que no podamos comparar incidencia.
- Un buen diagnóstico de Chlamydia Trachomatis por PCR es factible y de costo efectivo para la detección y tratamiento.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 361**

## DETECCION Y SUBTIPADO DE GRIPE EN LA TEMPORADA 2011-12 EN EL SISTEMA DE VIGILANCIA DE GRIPE EN EXTREMADURA

*Autor/a/s:* MONTES FLORES, ROSA MARIA; RODRIGUEZ RODRIGUEZ, GUADALUPE; BERMEJO BERNAL, JUANA JOSEFA, MATIAS SANCHEZ, ESTIBALIZ

*Centro de trabajo:* HOSPITAL SAN PEDRO DE ALCANTARA

*Provincia:* CACERES

*Correo electrónico del primer firmante:* rosamaria\_8\_7@hotmail.com

## Introducción:

La gripe es considerada un problema de salud pública y permanece como causa importante de morbilidad y mortalidad. La capacidad de los virus de la gripe de experimentar constantes cambios antigénicos obliga a una adecuada vigilancia epidemiológica y virológica, que en nuestro país se realiza a través del Sistema Centinela de Gripe, obteniéndose información tanto de los aislamientos de virus para su análisis antigénico y genético, como de la potencial capacidad de difusión en las poblaciones. Otros virus respiratorios pueden causar cuadros clínicos similares al de la gripe por lo que es importante un diagnóstico etiológico de los mismos.

## Material y Métodos:

Durante la temporada de gripe 2011/2012 desde la semana 40 a la semana 8 se analizaron 160 muestras de exudados nasofaríngeos obtenidos de pacientes que cumplían la definición de caso procedentes tanto de la red centinela de nuestra comunidad autónoma como de pacientes graves ingresados en los hospitales de la comunidad. Las muestras se recogieron en medio de transporte de virus (Viral Pack, Soria Melguizo) y se llevaron al laboratorio a 4°C y en tiempo inferior a 48h. Cada muestra fue procesada para cultivo celular por inoculación en shell-vials de células MDCK (Vircell) y tinción por inmunofluorescencia directa, tras 48 horas de incubación a 37°C, para V.influenzae A y B (ImagenTM Influenza A and B, Oxoid), y tras extracción de ácidos nucleicos por el sistema automático Cobas AmpliPrep (Roche Diagnostics) se realizó RT-PCR multiplex con Anyplex™ II RV16 Detection (Seegene) para detección de virus influenzae A (FLU A)y B (FLU B), virus parainfluenzae (PIV) 1, 2,3 y 4, adenovirus humano(AdV), virus respiratorio sincitial (VRS) A y B, coronavirus humano (CoV) 229E, NL63 y OC43, rinovirus humano (HRV) A/B/C/D, enterovirus humano (HEV), metapneumovirus (MPV) y bocavirus humano (HBoV) 1/2/3/4 y RT-PCR RealTime ready Influenza A/H1N1 Detection Set (Roche) para detectar FLU A.

Las muestras positivas para V. influenzae A fueron subtipadas por RT-PC ProFlu-St H1n,H1,H3 (Prodesse).

## Resultados:

Con la RT-PCR multiplex RV16 se obtuvieron 94 (59%) muestras positivas: 53 (32%) lo fueron para FLU A, 45 como único aislado y 7 en coinfección con: 1 HRV, 1 AdV, 1 CoV, 1 RSV B, 1 MPV, 1 RSV A+ 1 HRV, 1 AdV + 1 HRV + 1 PIV 4; 2 (1%) para FLU B, 13 (8%)

para VRS A y 5 (3%) para VRS B; 12 (7.5%) para HRV; 7 (4%) para CoV; 6 (4%) para PIV 1, 2, 3 y 4; 3 (2%) para AdV; 2 (1%) para MPV; 2 (1%) para HEV y 2 (1%) para HBoV .Las coinfecciones fueron las descritas con FLU A, a excepción de 2 RSV A con 1 HEV y con 1 CoV. Con RT-PCR RealTime ready Influenza A/H1N1se detectaron 46 muestras positivas para FLU A que coincidieron con los resultados de la RT-PCR multiplex.

Todos los FLU A resultaron ser H3 a excepción de un H1N1 pandémico.

De las 55 muestras en que se detectaron FLU A y B por RT-PCR, la tinción de shell-vials fue positiva para los 2 (100%) casos de FLU B y sólo para 35 (65%) de los positivos de FLU A, no encontrándose ningún cultivo positivo con RT-PCR negativa.

## Conclusiones:

La RT-PCR multiplex permite detectar V.influenzae con mayor sensibilidad que el cultivo celular convencional, además de la detección e identificación de un espectro más amplio de virus. El significado clínico de la detección molecular de diversos virus en una misma muestra debe ser evaluado cuidadosamente pues dicha detección podría ser debida a infecciones previas y no implicar infección aguda.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 368**

## PREVALENCIA DE LA HEPATITIS B Y HEPATITIS C EN UNA POBLACIÓN ESTUDIANTIL

*Autor/a/s:* Emanuel Prata, Ana Pereira, João Figueiredo, Nádia Osório, Armando Caseiro, Ana Valado, António Gabriel, Fernando Mendes

*Centro de trabajo:* Escola Superior de Tecnologia de Saúde de Coimbra

*Provincia:* PORTUGAL

*Correo electrónico del primer firmante:* prata\_emanuel@hotmail.com

## Introducción:

Las infecciones causadas por virus de la hepatitis B (HBV) y virus de la hepatitis C (HCV) siguen constituyendo un problema de salud en todo el mundo mismo con los avances en la prevención y tratamiento. Estos virus son los principales responsables de la hepatitis crónica, cirrosis y cáncer de hígado, y su transmisión está estrechamente relacionada con uso de drogas inyectadas y las conductas sexuales de riesgo. La existencia de múltiples parejas y relaciones sexuales sin protección durante la adolescencia son factores de forma destacada en la exposición a estas enfermedades de transmisión sexual.

## Objetivo:

Evaluar la prevalencia del HBV, HCV y comportamientos sexuales en una población de estudiantes en el área de Ciencias de la Salud.

## Métodos:

En este estudio 184 estudiantes de la Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Coimbra contestaron un cuestionario sobre el comportamiento sexual. Han sido recogidas muestras de sangre a los participantes para la búsqueda del antígeno de superficie del HBV (HBsAg), anticuerpos anti-HBV (anti-HBc y anti-HBs), antígeno y anticuerpos anti-HCV mediante kits comerciales de ELISA (Bio-Rad). Las muestras dudosas y positivas se repitieron en duplicado. En las muestras HCV positivas se realizó confirmación por Western Blot (Bio-Rad), y después se llevó a cabo la investigación del genoma viral por RT-PCR.

## Resultados:

La seroprevalencia encontrada del HBV y HCV fue (0,5%; 1) y (0%; 0) respetivamente. Los participantes reportaron un promedio de 4,22 ± 3,66 de relaciones románticas (sin contacto sexual) durante toda la vida, con el primero a los 15,20 ± 1,73 años. Los participantes sexualmente activos (56,5%; 104) comenzaron su actividad sexual a los 17,32 ± 1,23 años y el número promedio de parejas sexuales fue 2,06 ± 2,31. La mayoría de ellos (63,5%; 66), dice utilizar siempre el condón en las relaciones sexuales, (24%; 25) casi siempre, (7,7%; 8) rara vez y (4,8%; 5) nunca.

## Discusión/Conclusión:

Estadísticamente no fue posible relacionar las diferentes variables en el estudio debido a la escasa representación de las muestras positivas. Sin embargo, la muestra positiva para el HBsAg, HBcAc e RT-PCR es parte de un grupo de conductas de riesgo, que cuenta con inicio temprano de la actividad sexual, rara vez con la protección. El programa de vacunación implementado a nivel nacional pueden ser responsables por la baja prevalencia del HBV encontrado.

## Palabras-Clave:

HBV, HCV, seroprevalencia, conductas de riesgo.

# MISCELANEA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 030

## LOS VALORES DE REFERENCIA

*Autor/a/s:* MORENO TORRES BEATRIZ, FRANCISCO JAVIER PICO FERNANDEZ, OTERO REDONDO CARMEN

*Centro de trabajo:* HOSPITAL LUCUS AUGUSTI Y HOSPITAL COMARCAL DE MONFORTE

*Provincia:* LUGO

*Correo electrónico del primer firmante:* beatriz.moreno.torres@sergas.es

### Introducción:

cualquier resultado analítico carece de interés por sí mismo. Para que nos proporcione una información va a ser necesario su comparación con los valores de una población, lo tendremos que comparar con los "valores considerados normales". En el año 1969 se propuso sustituir el término de "valores normales" por el de "VALORES DE REFERENCIA".

Estos valores de referencia se deben de establecer antes de ofertar una nueva determinación y cuando se modifica el método utilizado para su determinación, sobre una población determinada.

### Objetivo:

conocer la importancia de unos buenos valores de referencia para una correcta interpretación por parte del clínico y del técnico.

### Material:

El muestreo es la técnica que se utiliza en la estadística para seleccionar una muestra representativa de una población. La realización de un estudio a toda una población, en la mayoría de los casos, resulta imposible dado su volumen inabarcable. Es por ello, por lo que se hace necesario elegir una muestra, de la que se espera conseguir que sus propiedades sean extrapolables a toda la población.

Por medio de estas muestras lograremos determinar una serie de datos: conoceremos la media aritmética de estos valores ( $\bar{x}$ ), la desviación estándar (S), y la dispersión de los resultados obtenidos.

Si obtuviéramos una distribución de referencia gaussiana con una media  $\mu$  y una desviación estándar  $\sigma$ , sabríamos que aproximadamente el 68% de los valores de la población caerían dentro del intervalo  $\mu \pm 1\sigma$ , el 95% estaría dentro de  $\mu \pm 2\sigma$ , y el 99,7% estará dentro del intervalo de  $\mu \pm 3\sigma$ .

### Método:

Los Valores de referencia son una herramienta indispensable para el clínico.

Las variaciones de los resultados analíticos pueden tener 2 orígenes: un origen técnico y un origen biológico.

Las causas técnicas derivan de los instrumentos (de ahí la necesidad de ajustar los VR cuando se sustituye un equipo o se cambia de método) y del procedimiento en sí: haber realizado un buen muestreo (haber definido un estado de referencia: individuos de 20 a 30 años, sin sobrepeso, ayuno previo de 12 horas, sin enfermedad,...) y de una buena obtención de la muestra y de su correcto transporte al laboratorio.

Las causas biológicas que pueden modificar los valores de referencia son muy amplias: edad, factores genéticos ("raza", sexo), factores fisiológicos (variaciones circadianas, momento del ciclo menstrual, momento del embarazo), hábitos personales (dieta, ejercicio...)

También hay que tener en cuenta un 3º origen: los factores ambientales como altitud o época del año.

### Resultados:

Algunas pruebas de laboratorio son independientes de las características antropométricas de los pacientes. Un ejemplo es la glucosa, características como sexo, edad, talla, peso, etc... no van a condicionar el resultado de la prueba.

Los valores de otras pruebas sí que van a sufrir variaciones en función de estas características. Ejemplos:

- en función de sexo (para población adulta):

Valores de referencia en recuento de hematías: ♀ 4,20-5,40 mill/m.c. ♂ 4,70-6,10 mill/m.c.

Valores de referencia de progesterona: ♀ 3,34-25,56 ng/ml ♂ 0,15-0,50 ng/ml

- en función de la edad:

Recién nacidos 17±2,0 g/dl ; Lactantes (de 30 a 90 días) 11±1,5 g/dl; Niños (de 3 meses a 10 años) 12,5±1,5 g/dl

- en función de la población:

Valores de referencia en Proteínas totales: Población subsahariana 7-9,2 g/dl Población autóctona 5,7-8,2 g/dl

Valores de referencia en IgG: Población subsahariana 1178,93-2231,53g/dl Población autóctona 700-1600 g/dl

- En función del ciclo circadiano:

Valores de referencia Cortisol basal (extracción entre 8:00 y 11:00) 4,3-22,4 ng/dl Cortisol 20 horas 3,1-16,6 ng/dl

- en función del ciclo menstrual :

Valores de referencia de la Progesterona

F. Follicular 0,15-1,40 ng/ml F.Luteínica 3,34-25,56 ng/l Mitad f.lútea 4,44-28,03 ng/ml Postmenopáusicas 0,00-0,73ng/ml

- Momento del embarazo:

Valores de referencia de progesterona: embarazadas 1º tri 11,22-90,00 ng/ml ; 2º tri 25,55-89,40 ng/ml ; 3º tri 48,40-422,50 ng/ml

El 3º origen del que hablamos previamente, también puede generar una variación en los valores de referencia. Un ejemplo es el de la altitud (poblaciones oriundas):

	Valores de referencia de PCO2	Valores de referencia de PO2
México (2.270 m de altitud)	27,8±3,63* (* valor de 1 desviación estándar)	64,0±6,4*
Los Angeles California (nivel del mar)	41,5±3,2*	85,6±6,9*

### Conclusiones:

La utilización de los Valores de Referencia en poblaciones diferentes a las estudiadas puede llevar a errores diagnósticos y a actuaciones terapéuticas erróneas.

### Bibliografía:

Intranet Hospital Lucus Augusti, página de análisis clínicos. Valores de referencia SEQC. Rev Clin Esp. 2008; 208(8): 386-92 Valores de referencia de PH y Gases en niños y adultos de San José de Costa Rica.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 060

## MEJORA DE LA CALIDAD ANALÍTICA Y EL PROCESO ASISTENCIAL EN EL LABORATORIO CLÍNICO ICS CAMP DE TARRAGONA

*Autor/a/s:* Luceño Castilla, Yolanda; Criado Najer, Inmaculada; Cañellas Nieto, Cristina; Dorado Cabello, David ; Sancho Vilellas, Mª Jesus

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Joan XXIII

*Provincia:* Tarragona

*Correo electrónico del primer firmante:* yolanda.yolyluca@gmail.com

### Introducción:

La confirmación de un diagnóstico se establece mediante observación e identificación del agente causal en una muestra clínica recogida del sujeto en estudio. De ahí la importancia de la buena recogida, tratamiento, conservación, traslado y recepción de la muestra a nuestro laboratorio dentro de la fase pre-analítica.

Para conseguir una buena metodología de trabajo por parte del personal sanitario y el resto del equipo, nos propusimos llevar a cabo un curso de obtención, recogida y recepción de muestras en el Laboratori Clínic ICS del Camp de Tarragona, difundiendo una serie de conocimientos que nos permitan en un futuro aportar la máxima calidad al servicio, asegurando la exactitud y fiabilidad de los datos obtenidos y reduciendo al mínimo errores que conlleven al rechazo de las muestras, repetición de los análisis y un perjuicio para el paciente disminuyendo la calidad del servicio

### Objetivo:

El objetivo general del curso impartido por los técnicos del Laboratori Clínic ICS Camp de Tarragona es disminuir las incidencias pre-analíticas de las muestras no conformes en el laboratorio, mejorando la calidad analítica y el proceso asistencial. Para ello nos centraremos en:

1. Mejorar la fase pre-analítica
2. Informar al personal sanitario en la correcta obtención y recogida de muestras biológicas enviadas al laboratorio
3. Informar al personal técnico en la correcta recepción de muestras biológicas que llegan al laboratorio.

## Material y Métodos:

El Curso impartido se realizó a principios de 2012 mediante clases teóricas en un aula de formación con soporte informático en el Hospital Joan XXIII de Tarragona durante 5 días con un total de 12 horas, en los centros ABS de Reus durante 5 días con un total de 12 horas y en los centros ABS de Tarragona durante 5 días con un total de 12 horas, la totalidad de asistentes al curso fue de 150 personas.

Para evaluar el nivel de conocimientos de los asistentes al curso proporcionamos al inicio i al final del mismo un cuestionario sobre la obtención y recogida de muestras biológicas.

## Resultados:

Se adjuntará sendas tablas con los resultados del cuestionario, así como de la ficha de evaluación formativa para saber el grado de satisfacción del curso.

## Conclusión:

Los datos que observamos en las tablas denotan una clara mejora de los conocimientos del personal técnico y sanitario una vez impartido el curso. Toda la información aportada servirá para que los errores que conllevan al rechazo de las muestras biológicas recibidas en el laboratorio disminuyan considerablemente, consiguiendo aportar la máxima calidad al servicio.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 073

### INDICADOR DE EFICIENCIA DEL LABORATORIO EN FUNCION DE LA COMPLEJIDAD EN HOSPITALIZACION

Autor/a/s: LOPEZ GUTIERREZ MONTSERRAT;GARCIA LOPEZ M<sup>a</sup> NIEVES;ROSA M<sup>a</sup> MARTIN LOPEZ;IBÁÑEZ GARROTE SONIA M<sup>a</sup>;PARDO MOLINA M<sup>a</sup> BELEN

Centro de trabajo: HC AXARQUIA

Provincia: MALAGA

Correo electrónico del primer firmante: montse-mami@hotmail.com

## Introducción y Objetivos:

Los Grupos Relacionados de Diagnósticos (GRD) son un sistema de clasificación de episodios en clases clínicamente coherentes y con similar consumo de recursos. Se utilizan para: medir la complejidad (peso casemix o peso medio) de los hospitales, comparar hospitales a través de una amplia gama de recursos y de medidas de resultados, evaluar resultados, determinar la calidad y adecuación del uso de medios, analizar los riesgos de los pacientes, pago de casos de una región a otra, ejecución y soporte de los protocolos o guías así como desarrollo de actuaciones ante factores críticos, como base de gestión interna y de sistemas de planificación.

Cada GRD tiene un peso relativo (PM) que es el coste previsible respecto al coste medio de todos los pacientes hospitalizados, siendo las unidades de producción hospitalarias de cada GRD el producto del PM por el número de casos

El peso total o cantidad de Unidades de Producción Hospitalaria (UPHs) de la Unidad de Hospitalización será la complejidad absoluta y vendrá dado por el sumatorio de los productos de los pesos relativos de cada GRD por el número de altas en ese GRD

El cociente Unidades relativas de valor (URVs)/Unidades de producción hospitalarias (UPHs) expresa las URVs de laboratorio producidas por cada UPH de la Unidad de Hospitalización en cuestión. El objetivo fue establecer un nuevo indicador que contemple la utilización del laboratorio en función de la complejidad de las altas hospitalarias, según GRDs

Palabras clave: Unidad Relativa de Valor (URV), Unidad de Producción Hospitalaria, (UPH), Grupos Relacionados de Diagnósticos (GRDs), Coste analítico.

## Material y métodos:

Se ha realizado un estudio evolutivo del cociente URVs/UPHs de cada Unidad de Hospitalización, durante el período 2005-2010. Las URVs se obtuvieron según el Catálogo actualizado en 2009 de la Comisión creada en la Dirección Regional del Plan Andaluz de Laboratorios y Bancos Biológicos del Servicio Andaluz de Salud. Las UPHs se obtuvieron a partir del Conjunto Mínimo de Datos Básicos (CMBD), que se nutre de variables administrativas y de la información clínica contenida en los informes de alta médicos (diagnósticos y procedimientos clasificados a través de la CIE-9-MC Clasificación Internacional de Enfermedades 9ª Revisión Modificación Clínica).

Para el estudio comparativo se dividió el período en dos franjas: 2005-2008, sin consenso generalizado con las Unidades en materia de gestión de la demanda y el período 2009-2010, durante el que se establecieron herramientas para modular la demanda en consenso con siete de las 9 unidades de hospitalización.

## Resultados:

La media de los índices de todos las Unidades en el primer período fue de 100.16, y de 87.49 en el segundo. Los mayores índices se obtuvieron en Pediatría, Medicina Interna y UCI.

En todas las unidades en las que se pactaron herramientas de gestión de la demanda se produjo una reducción del índice en el segundo período respecto del primero, con descensos que oscilaron entre el 8.4 y el 60.74 % (media 12.6%), lo que implica una adecuada utilización del Laboratorio en función de la complejidad de la casuística. La mayor reducción se produjo en la Unidad de Hospitalización de Urología (60.74%). El índice se elevó en las dos Unidades de Hospitalización en las que no se pactaron herramientas para la gestión de la demanda (4.6 y 38.5%). Ver Tabla adjunta.

UNIDAD HOSPITALIZACIÓN	Cociente URVs/UPHs								
	2005	2006	2007	2008	Media	2009	2010	Media	%Incremento interperíodos
Medicina interna	151.10	161.66	150.72	171.43	158.72	149.2	140.8	145.35	-8.4
Cirugía	49.88	42.33	55.70	49.91	49.46	36.78	36.32	36.55	-26.1
U.C.I	307.97	275.66	388.11	231.18	300.73	253.51	207.31	230.41	-23.38
Oftalmología	9.40	3.68	4.89	12.30	7.57	11.29	13.33	12.31	+38.5
Otorrinolaringología	15.64	19.89	11.60	13.86	15.25	9.83	4.11	6.97	-54.3
Pediatría	224.43	209.18	247.02	232.51	228.29	244.46	233.92	239.19	+4.6
Obstetricia-Toco	70.67	66.90	72.54	73.24	70.84	71.58	56.96	64.27	-9.27
Traumatología	30.55	51.02	50.15	48.65	45.09	44.86	39.83	42.35	-6.05
Urología	33.23	37.37	17.27	14.02	25.47	8.76	11.24	10	-60.74
MEDIA PERÍODOS					100.16		87.49	-12.6	

## Conclusiones:

El cociente URVs/UPHs representa un indicador adecuado para evaluar la utilización de Laboratorio en las Unidades de Hospitalización, al tener en cuenta no sólo la complejidad de Laboratorio, sino también la de los episodios. Resulta ser un indicador que puede medir la eficiencia en la utilización del Laboratorio. Resulta útil en el seguimiento de la gestión de la demanda consensuada entre Laboratorio y la Unidad Clínica de Hospitalización en cuestión, para evaluar la eficacia de dicha gestión.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 105

### ALTERACIÓN DE LOS NIVELES DE CITOQUINAS Y QUIMIOQUINAS EN LÁGRIMA POR EXPOSICIÓN A UN AMBIENTE ADVERSO EN UNA CÁMARA DE CONTROL AMBIENTAL-CER-LAB

Autor/a/s: Carmen García-Vázquez, Marisa Tesón, Vicente Martín, Alberto López, M<sup>a</sup> Jesús Benito, María Eugenia Mateo, M<sup>a</sup> Jesús González-García, Margarita Calonge, Amalia Enríquez-de-Salamanca

Centro de trabajo: IOBA Instituto de Oftalmobiología Aplicada

Provincia: Valladolid

Correo electrónico del primer firmante: carmen@ioba.med.uva.es

## Introducción:

El Síndrome de Ojo Seco (SOS) es un trastorno inflamatorio multifactorial y complejo de alta prevalencia que afecta a millones de personas en todo el mundo y que conlleva un importante deterioro en la calidad de vida de los pacientes. La superficie ocular está expuesta a diferentes variables ambientales, tales como cambios en la temperatura (T°), humedad y en ocasiones presión barométrica, entre otros. Las condiciones ambientales son un factor importante en el desarrollo del SOS, dado que pueden estimular o retardar la evaporación de la lágrima, así como incrementar o disminuir sus síntomas. El objetivo de este trabajo fue evaluar los cambios que se producen en los niveles de citoquinas y/o quimioquinas y metaloproteinasas en la lágrima tras la exposición a un ambiente adverso controlado creado en una Cámara de Control Ambiental (CER-Lab).

## Material y Métodos:

Se estudiaron 74 sujetos divididos en dos grupos (A y B), expuestos a dos condiciones ambientales controladas diferentes. Grupo A: 19 sujetos controles y 15 sujetos con SOS leve-moderado que fueron expuestos a una condición ambiental denominada "estándar" (T°: 23°C, humedad relativa: 45%, presión atmosférica: 930 mbar (700 m sobre el nivel del mar) sin flujo de aire y realizando una actividad visual de cerca); Grupo B: 20 sujetos controles y 20 sujetos con SOS leve-moderado que fueron expuestos a una condición ambiental denominada "adversa" (T°: 23°C, humedad relativa: 5%, presión atmosférica: 750 mbar (2500 m sobre el nivel del mar) con flujo de aire y visualizando la televisión). A los sujetos se les recogió lágrima antes de entrar en el CER-Lab y después de 2 horas de exposición al ambiente controlado correspondiente. Se recogieron 4ml de lágrima con un microcapilar de vidrio, y se introdujeron en un criotubo que contenía 16 ml de Beadlyte® buffer. Las muestras así recogidas se mantuvieron a -80°C hasta su análisis. Se analizó mediante tecnología X-MAP la secreción de 15 citoquinas/quimioquinas: EGF, Fractalkina, IFN-γ, IL-10, IL-12p70, IL-17A, IL-1β, IL-1RA, IL-2, IL-6, IL-8, IP-10, RANTES, TNF-α y VEGF

con un kit HCYTO-60K 15X-Milliplex, Millipore Ibérica, Madrid, Spain). La concentración de MMP-9 se midió en un ensayo separado con un kit single-plex para MMP-9 (HMMP2-55K Panel 2, Milliplex, Millipore Ibérica, Madrid, Spain). Las muestras fueron incubadas con microesferas conjugadas con anticuerpos (anti-citoquinas o anti-metaloproteinasas, respectivamente) durante toda la noche a 4°C. Al día siguiente se realizaron lavados y se incubaron las muestras con un anticuerpo biotinilado durante 1 hora en agitación, seguido de una incubación durante 30 minutos con Ficoeritrina-Estreptavidina. Los resultados se analizaron en un Luminex IS-100 y se interpolaron en curvas estándar, transformando las unidades de fluorescencia en concentración (pg/ml) de citoquinas/quimioquinas o MMPs, según corresponda.

#### Resultados:

La condición ambiental "adversa" provocó en los sujetos controles un aumento significativo en las citoquinas RANTES e IL-6 así como una disminución de EGF y una tendencia de aumento de las metaloproteinasas (MMP-9) no significativo. En los sujetos con SOS leve-moderado, la condición ambiental "adversa" produjo una disminución significativa en EGF y un aumento significativo de los niveles de IL-6 y de MMP-9.

Conclusiones: Los niveles de citoquinas, quimioquinas y MMPs en lágrima de sujetos sanos y con SOS-leve moderado varían en dependencia del ambiente al que estén sometidos cuando se les toma la muestra de lágrima. El CERLab es capaz de recrear condiciones ambientales que nos ayudarán a estudiar cómo afectan las mismas a los niveles de citoquinas y quimioquinas y de metaloproteinasas en lágrima y a correlacionar estos datos con los niveles observados en estados patológicos, y de esta manera al diseño de terapias más específicas y eficaces para estos pacientes.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 139**

### CONTROL DE TEMPERATURA EN UN LABORATORIO DE FECUNDACIÓN IN VITRO

*Autor/a/s:* Martínez Fernández, Ana; Agudo Garcillán, David; Bronet Campos, Fernando; Becerra Fernández, Diego; Bou Sepúlveda, Carmen.

*Centro de trabajo:* IVI-MADRID

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* ana.martinez.fernandez@ivi.es

#### RESUMEN:

En los inicios de la reproducción asistida, los laboratorios trabajaban a temperatura ambiente. Ahora sabemos que los ovocitos y embriones son muy sensibles a variaciones de temperatura, siendo 37 +/- 0.5°C la temperatura óptima para el desarrollo embrionario. Para conseguir y mantener estos valores debemos disponer de los equipos necesarios durante todo el tiempo que los ovocitos y embriones están en el laboratorio con el fin de que su viabilidad no se vea alterada.

En IVI Madrid utilizamos distintos dispositivos de medición de temperatura dependiendo de los equipos que queremos controlar, con el fin de minimizar las variaciones dentro de cada equipo.

El objetivo de este estudio es controlar y ajustar nuestros equipos dentro de nuestro rango de tolerancia de temperatura.

#### Material y Métodos:

Para este trabajo se midió la temperatura de las siguientes superficies calefactadas: K-system (Campana de flujo laminar), tokai hit (placa microscopio invertido) y los incubadores para el cultivo embrionario (Galaxy y Heracell).

Los medidores utilizados son: sonda RI de temperatura de gota de medio de cultivo; sonda fluke para la medición de temperatura de superficies; termómetros digitales tomkey, programables con software incorporado, para medición y registro de temperatura en el interior de los incubadores.

Para mapear las desigualdades que nos encontramos al medir con la sonda fluke en distintas zonas de la superficie calefactada, corroboramos esas mismas zonas con el medidor RI de gotas de medio de cultivo.

#### Resultados:

- Incubador.- El uso de los termómetros tomkey, nos ha llevado a observar que un mismo incubador tiene diferencias de temperatura de hasta 1°C según las diferentes bandejas. Situación que requiere una revisión por parte del servicio técnico.

- ksystem.- Tras medir con el medidor fluke, tenemos diferencias alarmantes de temperatura según los puntos de la superficie calefacta donde estemos midiendo. Simulando la forma de trabajo real, confirmamos estas variaciones, las cuales oscilan entre los 35°C y los 38°C.

- Tokai.- Teniendo el display a una determinada temperatura, una vez que medimos con el medidor fluke, la sonda detecta una temperatura superior, pero al medir ésta en gota (como en el caso de las k-system) se mantiene en nuestro rango de tolerancia.

Tanto en las tokai como en las k-sytem ajustamos el display según los valores de temperatura obtenidos en gota de medio de cultivo.

Las diferencias entre el display y la temperatura en gota son de unos 3°C. Es decir, para tener la gota a 36.5°C, el display, tanto de la k-system como de la tokai tendrá que estar sobre los 39.5°C.

#### Conclusiones:

Debido a que es muy importante conocer la inercia térmica de las distintas superficies, realizamos controles de calidad exhaustivos, ajustando los displays de nuestros equipos en función de la temperatura que registramos con nuestros medidores. Estos dispositivos nos ofrecen valores más reales que nos permiten trabajar en los rangos de temperatura óptimos para el desarrollo embrionario.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 196**

### PREPARACIÓN DE LA AMFOTERICINA B LIPOSOMAL ( AMBISOME ® ) EN UNA ZONA ESTÉRIL.

*Autor/a/s:* Ignasi Bosch Gómez; Lorena Hernández Santos; Laura Espinosa López; Anabel Pérez Cayetano; Francisco Fernández Ruiz

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARI VALL D' HEBRON

*Provincia:* BARCELONA

*Correo electrónico del primer firmante:* nasi\_1988@hotmail.com

#### Introducción:

La amfotericina B liposomal (AMBISOME ®) es el tratamiento de elección para evitar posibles infecciones fúngicas. En los laboratorios de farmacia del hospital Vall d'Hebron realizamos el AMBISOME ® para facilitar su administración.

#### Objetivo:

Dar a conocer la metodología empleada en el laboratorio de farmacia para la realización del AMBISOME ® endovenoso.

#### Material y Métodos:

La preparación de este medicamento se debe realizar en un área estéril, para ello, el técnico deberá seguir el protocolo siguiente:

1. En una sala adyacente al laboratorio, el técnico se vestirá con uniforme estéril, polainas y gorro.
2. Una vez dentro del laboratorio, se lavará las manos y seguidamente se colocará una bata estéril, una mascarilla e introducirá el material necesario para la preparación dentro de la cabina de flujo laminar horizontal y a continuación volverá a lavarse las manos justo antes de entrar y una vez dentro se colocará los guantes estériles.

Preparación del AMBISOME®:

1. Reconstituir el vial de AMBISOME ® de 50 mg con 12 ml de agua inyectable e inmediatamente lo agitaremos durante 30 seg.
2. Introducir el vial reconstituido en un suero glucosado al 5% con una jeringa y un filtro de 0.5 µ.

La cantidad de AMBISOME® varia dependiendo del peso del paciente y al mismo modo la cantidad de suero glucosado al 5% varia en rango a la concentración (0.2-2mg/ml)

#### Resultado:

Obtenemos un medicamento estéril, en un formato único que facilita la administración. El protocolo de trabajo de área estéril de Vall d'Hebron ha obtenido unos resultados del 99,8% de eficiencia (no se ha mostrado un crecimiento microbiológico apreciable tanto de la muestra como de la superficie de trabajo).

#### Conclusión:

- Gracias a este método desciende drásticamente el riesgo de contaminación del paciente ya que se trata de un medicamento estéril.
- Prepararlo en función del peso del paciente nos permite ajustar dosis y optimizar volumen.
- La utilización de filtros de 0.5 µ permite que las partículas liposomales de mayor tamaño queden retenidas y no obstruyan los capilares sanguíneos.
- Preparamos la dosis requerida a cada paciente y así reducimos el margen de error en la administración.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 198**

### ELABORACIÓN DE ALFA -1- ANTITRIPSINA HUMANA

*Autor/a/s:* Ignasi Bosch Gómez; Lorena Hernández Santos; Laura Espinosa López; Anabel Pérez Cayetano; Francisco Fernández Ruiz

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARI VALL D' HEBRON

*Provincia:* BARCELONA

*Correo electrónico del primer firmante:* nasi\_1988@hotmail.com

### Introducción:

La  $\alpha$ -1-antitripsina humana es un inhibidor de el  $\alpha$ -1 proteinasa.

La falta de  $\alpha$ -1-antitripsina es un trastorno hereditario que lleva a una degradación tisular pudiendo causar enfisema pulmonar. En el departamento de farmacia se realizan dosis específicas a pacientes, para facilitar su administración y efectividad.

### Objetivo:

Dar a conocer la metodología empleada en el laboratorio de farmacia en la realización del  $\alpha$ -1- antitripsina humana ( TRYPSONE®).

### Material y Métodos:

La preparación de este medicamento se debe realizar en un área estéril, para ello, el técnico deberá seguir el protocolo siguiente:

En una sala adyacente al laboratorio, el técnico se vestirá con uniforme estéril, polainas y gorro.

Una vez dentro del laboratorio, se lavará las manos y seguidamente se colocará una bata estéril, una mascarilla e introducirá el material necesario para la preparación en la cabina de flujo laminar horizontal y a continuación volverá a lavarse las manos justo antes de entrar una vez dentro se colocará los guantes estériles.

Preparación del TRYPSONE® :

Reconstituir el vial de TRYPSONE® de 500 mg mediante una aguja de traspaso de doble punta con 25 ml de agua inyectable procurando verter el agua por la pared del vial evitando de esta manera la producción de espuma. El número de viales a reconstituir estará en función de la dosis a administrar. Es muy importante tener en cuenta que se debe agitar suavemente.

Posteriormente, envasaremos la dosis a administrar en un frasco estéril de vacío mediante un filtro estéril de 5  $\mu$ m.

La cantidad de TRYPSONE® dependerá del peso del paciente.

### Resultado:

Obtenemos un medicamento estéril, en un formato único y que se prepara en el mismo momento que va a ser administrado al paciente ya que posee una estabilidad de 3 horas desde su preparación. De esta manera, evitamos el crecimiento bacteriano por manipulación incorrecta

### Conclusión:

- Este método desciende drásticamente el riesgo de contaminación del paciente puesto que se trata de un medicamento estéril y, desde el momento que se ha realizado se debe proceder a su administración

-Tal y como hemos comentado anteriormente cada paciente llevará una dosis diferente dependiendo de su peso, por lo que unificar todos los viales de TRYPSONE® necesarios en un solo envase facilita la administración en un tiempo inferior a su estabilidad que es de 3 horas.

-La reconstitución y manipulación de los viales en un entorno estéril permite mantener la esterilidad del producto elaborado.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 211**

## **ANÁLISIS DE LAS SOLICITUDES NO ADMITIDAS EN 2011 EN EL ÁREA SANITARIA DE OSUNA**

*Autor/a/s:* M<sup>a</sup> José Gomila Ortega, Jose Andrés Palos Romero, M<sup>a</sup> Isabel Valderrama Rodríguez, Eloisa López Dueñas, Isabel Gómez Bocanegra

*Centro de trabajo:* (Hospital "La Merced" AGS de Osuna)

*Provincia:* (Sevilla)

*Correo electrónico del primer firmante:* (mjgo@orangemail.es)

### Introducción:

En el Sistema Sanitario Público Andaluz en el Proceso de Soporte de los Laboratorios Clínicos, establece una serie de indicadores de calidad preanalítica entre los que destacamos "Solicitudes no Admitidas". Las incidencias que dan lugar al rechazo de una solicitud son numerosas, algunas conllevan la falta de realización de las determinaciones solicitadas total o parcialmente. En la mayor parte de los casos generan una segunda consulta médica o de enfermería, inconvenientes al paciente al tener que realizar una nueva toma de muestra, consumo de recursos materiales y humanos innecesarios y el consiguiente retraso en la toma de decisiones clínicas.

### Objetivos:

Analizar las incidencias que dan lugar a Solicitudes no admitidas en las peticiones de rutina y automatizar la consulta de estos datos en nuestro Sistema Informático de Laboratorio (SIL).

### Material y Método:

Las incidencias detectadas se registraron en el SIL en una de las siguientes categorías: Solicitud sin demográficos, Solicitud sin etiqueta de código de barras, Solicitud con código de barras repetido, Solicitud sin espécimen, Solicitud con espécimen sin código de barras, Solicitud y espécimen con diferente código de barras, Especimen con código de barras sin solicitud, Solicitud sin determinaciones marcadas, Solicitud/Especimen determinaciones incorrectas.

A partir de los registros se establecieron los siguientes indicadores: % global de incidencias, % de incidencias individualizadas y % de incidencias por centro.

### Resultados:

Durante el año 2011 hemos recibido 132.830 solicitudes de rutina procedentes de hospitalización, consultas externas y centros de atención primaria registrando 888 incidencias (0.67%). La incidencia de Tubo sin código de barras y de espécimen sin solicitud fueron las de mayor frecuencia (13.40% y 11.26%) en contraste con la de Solicitud sin tubos/muestra que ha sido la de menor frecuencia (0.34%). En el análisis por centros encontramos un menor número de incidencias en Hemodiálisis que en los centros de atención primaria. Así mismo un 10% de las incidencias no pudieron ser adscritas a ningún centro por falta de demográficos.

### Conclusiones:

El establecimiento de un registro automatizado de incidencias forma parte de nuestros objetivos de Calidad y se confirma útil para el análisis de las incidencias de Rechazo de Solicitudes en el área de recepción de muestras y nos permitirá establecer estrategias de mejora que disminuyan dichas incidencias.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 221**

## **ESTUDIO DE LA VIABILIDAD CELULAR EN CONTENEDORES DE ALMACENAMIENTO TEMPORAL CON NITRÓGENO EN FASE GASEOSA**

*Autor/a/s:* Ligeró Martín, Gertrudis; Del Pino Zumaquero, Alberto; Remacho Jiménez, Nuria; Gómez Ramírez, Raquel; Navarro Linares, Héctor; Díaz de la Guardia Quiles, Rafael.

*Centro de trabajo:* Nodo de Coordinación del Biobanco del Sistema Sanitario Público Andaluz

*Provincia:* Granada

*Correo electrónico del primer firmante:* gertrudis.ligeró@juntadeandalucia.es

### Introducción:

Un contenedor de almacenamiento temporal de muestras a -196°C, es un recipiente especialmente preparado para mantener temperaturas muy bajas de forma estable durante un corto periodo de tiempo. No obstante, el tiempo útil que soporta este almacenamiento temporal es una incógnita que debemos resolver para almacenar las muestras de manera segura antes de su transporte.

**Objetivos:** Con este ensayo pretendemos comprobar cuál es el tiempo máximo durante el cual un contenedor de almacenamiento temporal soporta las muestras almacenadas a -196°C, manteniendo intacta la viabilidad de las muestras congeladas en su interior, simulando además condiciones extremas de uso.

### Material y Métodos:

Partiendo del supuesto de que no todas las células consiguen la misma viabilidad a la hora de congelarse, mantenerse congeladas y descongelarse, para valorar el periodo de tiempo donde el contenedor de almacenamiento temporal de muestras a -196°C, en fase gaseosa, mantiene óptima la viabilidad de las células almacenadas en su interior, vamos a usar distintos tipos celulares que poseemos en el Biobanco del Sistema Sanitario Público Andaluz, para llevar a cabo este ensayo. De este modo, pretendemos utilizar viales de células congeladas de fibroblastos normales, células tumorales y células madre mesenquimales.

Para bajar la temperatura del interior del contenedor a testar, vamos a utilizar nitrógeno líquido que añadiremos en su interior hasta conseguir enfriarlo a -196°C, pero mantendremos esta temperatura utilizando únicamente nitrógeno en fase gaseosa.

Comprobado mediante sonda que la temperatura en el interior es estable durante al menos un día, introduciremos en su interior 6 viales de cada uno de los distintos tipos celulares, previamente congelados en un contenedor de congelación con isopropanol (Mst frosty) a -80°C, y conocido tanto el número de células como la viabilidad en cada vial.

Para simular las condiciones extremas de uso del contenedor de nitrógeno temporal, abriremos el contenedor completamente 3 veces, todos los días, durante 2 o 3 minutos.

Cada 3 días descongelaremos un vial de cada uno de los distintos tipos celulares, y comprobaremos su viabilidad mediante recuento celular con azul tripan en la cámara de Neubauer.

### Resultados:

Mediante el sistema que se ha diseñado, se pretende conocer cuál es el tiempo durante el cual el contenedor de almacenamiento temporal que poseemos en el BBSSPA, funcionando

con nitrógeno en fase gaseosa, mantiene las células en depósito con una viabilidad superior al 90%.

### Conclusiones:

Conocer el periodo de tiempo útil del contenedor de almacenamiento temporal es imprescindible para asegurar la viabilidad de las células almacenadas en su interior, además de determinar los plazos en los que el contenedor ha de transportarse a su destino para el almacenamiento definitivo de las muestras contenidas temporalmente en su interior.

De este modo, gracias a mantener intacta la cadena de frío, crearemos un sistema mediante el cual podremos asegurar que el producto que suministramos a los investigadores, que en nuestro caso son en su mayoría células congeladas para cultivo, están adecuadamente congeladas y almacenadas, asegurando el suministro de células completamente viables para el inicio de su cultivo.

Resumen Comunicación Científica - ORAL  
Número: 237

## VITRIFICACIÓN, ¿EVOLUCIÓN O INVOLUCIÓN TECNOLÓGICA?

Autor/a/s: Jesús Fernández Sanz, María José Molina Mora, María Victoria Jimenez Mahillo, Sandra Pareja Marín

Centro de trabajo: (IVI Madrid)

Provincia: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: jfernandez.ivi@ivi.es

### Introducción:

En reproducción asistida, la criopreservación de embriones humanos en diferentes estadios de desarrollo ha sido una estrategia clínica que consigue aumentar las posibilidades de éxito en los ciclos de fecundación in vitro y la rentabilidad del ciclo de estimulación. La criopreservación de embriones es una técnica efectiva al aumentar la tasa de gestación por ciclo de estimulación y disminuir las tasas de gestación múltiple. El objetivo de este trabajo es comparar las tasas de supervivencia, cancelación, embarazo, implantación y aborto de embriones descongelados en día 3 de desarrollo, usando el protocolo de congelación lenta como técnica en desuso y método de vitrificación como método novedoso. Para la congelación lenta, se usaron dos congeladores programables Planer (Kryo 360-1.7, Telstar, Spain) y Nicool (MS-21, Air Liquide, Spain) y para la vitrificación el método Kitazato sin ningún tipo de equipamiento electrónico.

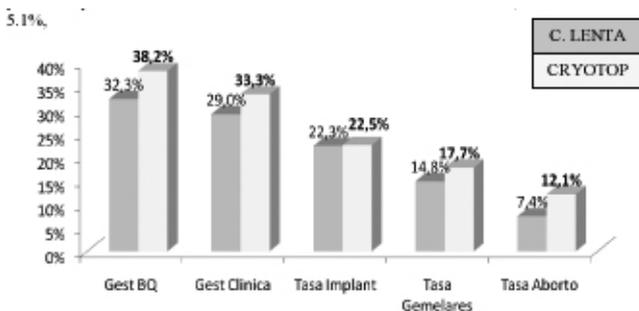
### Material y Métodos:

Estudio retrospectivo que incluye 563 ciclos de descongelación de embriones en día 3 y transferencia el mismo día en IVI Madrid el año 2009. De estos 563 ciclos, 116 estaban congelados por congelación lenta y 447 por vitrificación.

En estos ciclos se usan embriones congelados excedentes tras la transferencia embrionaria que poseían buena calidad en ese día: entre 6-8 células, 0-20 % de fragmentación y simétricos. En la congelación lenta se usa propanodiol, DMSO y sacarosa usando en nuestro caso un kit comercial. (Freeze Kit, Vitrolife), sin embargo en la vitrificación por Kitazato se usa etilenglicol, DMSO y sacarosa, usando también un kit comercial (Criotop safety vitrificación, Kitazato). Ambos tipos de congelación usan distintas fases: equilibrio, congelación, almacenamiento en N<sub>2</sub> líquido. La descongelación se realizó en el mismo día de la transferencia, a temperatura ambiente, tras la eliminación del crioprotector usando las soluciones de descongelación/desvitrificación (Thaw Kit, Vitrolife) y (Criotop safety Thawing, Kitazato).

### Resultados:

De las 116 pacientes de congelación lenta tuvieron una cancelación de 28.4%, una media de embriones transferidos de 1,6 y una edad media de 36,6. Por otro lado las pacientes que fueron desvitrificadas contaban con una edad media de 35,8, una media de embriones transferidos de 1,6 y una cancelación de 5,1%.



### Conclusiones:

Con los resultados obtenidos podemos concluir que el empleo del método de vitrificación para la criopreservación de embriones en día 3 de desarrollo, induce un descenso notable de la tasa de cancelación en embriones descongelados en día 3 de desarrollo, favoreciendo

las posibilidades de gestación de las pacientes. La gestación bioquímica, gestación clínica, implantación, y tasa de gemelares sufren también un aumento favorable en los resultados. Respecto a la tasa de aborto, el número no es estadísticamente significativo ya que contamos con un tamaño muestral mayor en la vitrificación. Podemos concluir que la vitrificación, siendo un método de criopreservación tecnológicamente más simple al no usar equipamiento electrónico, es una herramienta muy efectiva para utilizar de rutina como método de criopreservación embrionaria y una involución de la tecnológica.

Resumen Comunicación Científica - ORAL  
Número: 256

## REPROGRAMACIÓN CELULAR PARA LA OBTENCIÓN DE IPS

Autor/a/s: Amaya Sousa, Nerea Vazquez, Rosario Sanchez Pernaute

Centro de trabajo: Fundación Inbiomed, Laboratorio de Células madre y reparación neural

Provincia: Guipuzcoa

Correo electrónico del primer firmante: asousa@inbiomed.org

### Introducción:

El objetivo de nuestro laboratorio es desarrollar nuevas estrategias de tratamiento en la enfermedad Parkinson, una enfermedad neurodegenerativa que se caracteriza por la pérdida progresiva de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra. Para el desarrollo de nuevas terapias y modelos predictivos utilizamos neuronas derivadas de células pluripotentes. Actualmente, las técnicas de reprogramación celular nos permiten generar líneas de células pluripotentes y neuronas a partir de células accesibles como los fibroblastos de la piel, de cualquier individuo.

Las células reprogramadas a un estado pluripotente (iPS) se pueden propagar y re-diferenciar in vitro para estudiar la diferenciación neuronal e identificar rasgos implicados en la patogénesis de la enfermedad. La generación de líneas de células iPS humanas a partir de células somáticas se puede realizar mediante transgenes o proteínas recombinantes.

### Objetivo:

Optimización del protocolo de reprogramación y caracterización de células iPS obtenidas a partir de fibroblastos dérmicos humanos.

### Material y Métodos:

Hemos utilizado diferentes vectores lentivirales con los factores de pluripotencia de Yamanaka y diferentes dosis. Por un lado hemos utilizado un coctel de 4 lentivirus (pLM\_VexOct4, pLM\_mCitrineSox2, pLM\_mCherryKLF4 y pLM\_mCerulean\_cMyc) (Papapetrou et al., 2009) en los que cada factor de reprogramación se expresa con un reportero fluorescente. También hemos evaluado la eficacia de un vector lentiviral policistrónico con los 4 factores juntos (Lenti FUW\_OSKM). Asimismo, hemos evaluado el efecto del inhibidor de histona deacetilasa, ácido valproico, del inhibidor del receptor de TGF- $\beta$ , SB431542, y del inhibidor de Rho, Y-27632, en el proceso de reprogramación.

La efectividad inicial de la reprogramación se evalúa por la expresión de fluorescencia de los reporteros, y/o la presencia de mRNA específico de los transgenes mediante qPCR y la aparición de grupos de células formando colonias. Una vez obtenidas colonias con morfología similar a las colonias de células madre embrionarias realizamos la caracterización para comprobar la correcta reprogramación mediante la expresión de los factores de pluripotencia endógenos y el silenciamiento de los transgenes por inmunofluorescencia (Nanog, SSEA4, e-Cadherina) y qPCR (Oct3/4, Sox2, Nanog, FGF5, Rex1).

### Resultados y Conclusión:

Tras este estudio hemos determinado que el método más efectivo para la obtención de células iPS a partir de fibroblastos humanos de sujetos de avanzada edad, es la utilización de los 4 factores originales (Oct4, Sox2, KLF4 y cMyc) en proporción 3:1:1:1. La utilización de ácido valproico durante las tres primeras semanas y el uso del inhibidor Y-27632 durante los primeros pases favorece y acelera la aparición de colonias para la generación de clones de iPS.

Resumen Comunicación Científica - PANEL  
Número: 268

## EL PAPEL DEL TÉCNICO EN EL ÁREA DE CULTIVOS CELULARES: UNA HERRAMIENTA POR DESCUBRIR

Autor/a/s: Gómez Ramírez, Raquel; Barberán Aceituno, Cristina; Ligeró Martín, Gertrudis; Gutiérrez Aranda, Iván Gregorio; Navarro Linares, Héctor; Sáez Castillo, Ana Isabel; Sánchez López, Ana María

Centro de trabajo: Nodo de Coordinación del Biobanco del Sistema Sanitario Público Andaluz

Provincia: Granada

Correo electrónico del primer firmante: raquel.gomez.exts@juntadeandalucia.es

## Introducción:

Las funciones desarrolladas por el técnico en los laboratorios de cultivos celulares no deberían quedar relegadas a una simple aplicación de procedimientos de rutina. El papel del técnico puede ampliarse mediante un entrenamiento adecuado, pudiendo desarrollar de esta forma otros papeles más relacionados con estudios o investigaciones que necesiten de labores menos rutinarias.

## Objetivos:

el objetivo del presente estudio fue transmitir la metodología de trabajo en visualización y recolección de datos sobre líneas celulares mínimamente pasadas, de un biólogo especialista a un técnico de laboratorio. Con el entrenamiento adecuado, el técnico podrá reconocer las diferentes estructuras morfológicas, patrones de crecimiento y necesidades del cultivo celular. El trabajo realizado por el técnico permitiría al otro profesional no tener que revisar de forma rutinaria los cultivos celulares y dedicarse a otras tareas, mientras que el técnico podría desarrollar y completar sus competencias en esta materia.

## Material y Métodos:

para llevar a cabo la transmisión de la metodología de trabajo se realizó una normalización de todos los datos a recoger. Durante los primeros meses se realizó un trabajo conjunto entre el técnico y el biólogo para estandarización de los siguientes puntos:

1. En primer lugar se elaboró un formulario de recogida de datos en papel que el técnico rellenaba en cada revisión de las líneas celulares. Este formulario permitía una trazabilidad a la vez que normalizaba todos los datos de interés para el estudio y que posteriormente necesitaría el investigador para el desarrollo del trabajo: presencia/ausencia de crecimiento celular, morfología, ritmo de crecimiento, etc.
2. En segundo lugar se tomaron fotografías de las líneas celulares en cada uno de los puntos críticos del procedimiento, las cuales ayudarán a interpretar los datos del estudio y a iconografiarlo.
3. Elaboración de una base de datos con todos los elementos recogidos en el punto 1 y 2.

## Resultados:

La normalización de los datos y el trabajo conjunto por parte de ambos profesionales permitió transmitir una metodología de trabajo al técnico de laboratorio. Gracias a esta metodología el técnico pudo realizar todas las tareas concernientes al mantenimiento y toma de decisiones de los cultivos mínimamente pasados, así como de recoger de forma exhaustiva y rentable para el estudio todos los datos de generación de este tipo de líneas.

Los datos normalizados del formulario fueron: trabajo realizado (subcultivo, cambio de medio, congelación...), crecimiento celular, morfología, contaje celular...

Los puntos críticos para la toma de fotografías fueron: subcultivo, cambio de morfología y pre-caracterización celular

Y los campos recogidos en la base datos han sido: código identificativo de la línea celular, condiciones de cultivo, tipo de muestra, diagnóstico y estadio del tumor, datos clínicos del paciente, morfología, pase máximo alcanzado, ritmo de crecimiento (double-time), éxito en la generación, submuestras para caracterización y técnicas de caracterización ya realizadas.

Conclusiones: El análisis de los datos recogidos por el técnico nos ha permitido tomar decisiones acerca de la viabilidad de cada una de las líneas, conocer todas sus características para su correcta caracterización y tomar los datos necesarios para la realización del estudio para el cual estaban siendo generadas. Esta normalización y traspaso de metodología de trabajo implica que el licenciado puede dedicar su actividad a otras labores del desarrollo del proyecto y al técnico le permite una mayor autonomía en el desarrollo de sus funciones y una ampliación de competencias.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 271**

### **“SUSCEPTIBILIDAD DE LAS CÉLULAS MADRE NEURALES HUMANAS A ADENOVIRUS ONCOLÍTICOS”**

*Autor/a/s:* Juana San Emeterio, Pilar González-Gómez, Rafael Alemany, Javier García-Castro, Helena Mira.

*Centro de trabajo:* Instituto de Salud Carlos III, Neurobiología Molecular

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* jse@isciii.es

## Introducción:

El glioblastoma es el tumor cerebral primario más frecuente. Se trata de un tumor que provoca importantes limitaciones funcionales para los pacientes que lo padecen y que posee un índice de supervivencia de unos 12 meses. Tras dos décadas de estudios moleculares se han identificado cambios genéticos relevantes en los tumores gliales, pero a pesar de ello estos tumores son resistentes a los tratamientos actuales de quimio y radio-terapia.

La viroterapia antitumoral consiste en el uso de virus genéticamente modificados para el tratamiento del cáncer, existiendo en la actualidad ya diversos virus oncolíticos que están siendo testados en ensayos clínicos. Por otro lado, las células madre neurales adultas

han mostrado capacidad de migrar hacia zonas dañadas del Sistema Nervioso, en especial a los tumores. Debido a esta característica, nuestro grupo se encuentra investigando la posibilidad de utilizar células madre neurales adultas como vehículo celular de adenovirus oncolíticos en el tratamiento del glioblastoma.

## Objetivos:

Los objetivos que nos hemos propuesto han sido: comparación de la capacidad infectiva de los adenovirus candidatos con distintas modificaciones, para proponer un vector adecuado al tratamiento, optimización in vitro de la infección de células madre neurales con diferentes tipos de virus oncolíticos, verificación de su ciclo lítico y análisis de la capacidad de migración de las células madre neurales a los gliomas.

## Material y Métodos:

Para estudiar la eficacia de trasducción de los virus con el tropismo modificado, se emplean los virus TLRGD/6 y TLRGDK, que poseen actividad luciferasa intrínseca. Realizamos curvas dosis de infección en las células madre HNSC.100. y comprobamos su infectividad mediante ensayos de luciferasa.

En paralelo se realizaron ensayos de migración hacia las células de glioma “in vitro” sobre un sustrato de matrigel. Para ello, se infectaron estas células madre neurales adultas con un lentivirus que sobreexpresa la proteína verde fluorescente (PL-SIN-EF1A-EGFP). Además de estos ensayos “in vitro”, se realizaron ensayos “in vivo” de migración de las células HNSC.100-GFP hacia gliomas humanos generados a partir de células U87 en ratones inmunodeficientes.

## Resultados:

Nuestros experimentos utilizando la línea HNSC.100 de células madre humanas nos han permitido comprobar que los adenovirus con el tripéptido arginina-glicina-aspartato en el “knob” de la fibra del adenovirus infectan mejor a las células madre. También hemos podido demostrar que las HNSC.100 presentan tropismo hacia las células de glioma en cultivo y que sobreviven tras el trasplante intracraneal en ratones inmunodeficientes.

## Conclusiones:

En estudios futuros investigaremos el tropismo de las células madre HNSC.100 in vivo y la capacidad oncolítica de los adenovirus seleccionados en modelos animales de glioblastoma.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 283**

### **ESTADO ACTUAL DE LA SELECCIÓN DE DONANTES DE SEMEN SEGÚN LOS CRITERIOS DE LA OMS 2010.**

*Autor/a/s:* Noelia Salinas Iniesta, Elena Sellés Soriano, Beatriz Losa Jover, Elena Martínez-Jiménez Díaz, Manuel Muñoz Cantero.

*Centro de trabajo:* IVI Alicante

*Provincia:* (Alicante)

*Correo electrónico del primer firmante:* Noelia.Salinas@ivi.es

## Introducción:

En el centro IVI Alicante se seleccionan donantes de semen para tratamientos de Reproducción Asistida (RA) en parejas donde el varón tiene problemas graves de infertilidad, o en aquellas mujeres sin pareja. Con este fin se reclutan varones sanos manteniendo congeladas sus muestras durante 6 meses en cuarentena antes de ser utilizadas para evitar la transmisión de enfermedades infecciosas, por lo que todas las muestras de donantes de semen se utilizan previamente congeladas. El objetivo del presente estudio es conocer como afectan los nuevos valores de referencia de la OMS 2010 sobre nuestros criterios de selección de donantes teniendo en cuenta que con los nuevos criterios se observa una tendencia a reducir los valores límite que permiten considerar un semen como normal. Con estos nuevos parámetros se aumenta en general el conjunto de seminogramas con resultado de normozoospermia. Esta circunstancia podría tener su importancia a la hora de seleccionar donantes de semen según su diagnóstico y pudiendo afectar a los resultados de descongelación.

## Material y métodos:

Los donantes fueron sometidos a una entrevista seguida de unos controles para evaluar su calidad espermática, su capacidad de congelación y descongelación, así como analíticas de sangre (grupo sanguíneo, factor Rh, detección de  $\beta$ -talasemia, detección de sífilis, hepatitis, VIH y Chlamydia trachomatis) y estudio psicológico.

Los estudios genéticos consistieron en un screening de Fibrosis quística (FQ) donde se estudiaron en sangre 36 mutaciones del gen de fibrosis quística (CFTR). Y el estudio del Cariotipo mediante el análisis cromosómico de 15 metafases mediante bandas GTG) y estudio psicológico.

Desde la implantación en nuestro centro de estos valores de referencia en enero del 2011 se han evaluado 35 donantes con edades comprendidas entre 18 y 35 años.

## Resultados

Con los antiguos valores (OMS 1999) sólo obtendrían un diagnóstico de normozoospermia 17 candidatos. Con los nuevos valores (OMS 2010) obtendrían un diagnóstico de normozoospermia un total de 29 (17+12). Los 6 restantes, fueron rechazados por obtener diagnósticos de oligozoospermia, astenozoospermia u oligoastenoteratozoospermia, si nos referimos sólo al estudio de la calidad seminal sin tener en cuenta otros factores de rechazo como los genéticos, los serológicos o los psicológicos. Se puede observar que con los nuevos valores de la OMS 2010 hay más donantes de semen con normozoospermia. Pero esta observación sólo nos indica que no es suficiente obtener este diagnóstico para tener un buen resultado en nuestro programa de donación de semen ya que sus muestras se han de utilizar congeladas-descongeladas por lo que si nos basamos en estos nuevos valores los resultados de descongelación serían deficientes. Si se aceptaran a los 29 por normozoospermia nos encontraríamos con resultados de descongelación no aptos para todos los tratamientos de RA.

## Conclusiones:

Los resultados en este trabajo nos demuestran que aplicando los criterios de referencia de la OMS 2010 aumenta el número de seminogramas diagnosticados como normozoospermia, sin embargo no es suficiente este criterio diagnóstico como base de selección de donantes para poder crear un banco de semen de calidad con resultados de descongelación aptos para tratamientos de reproducción asistida como las inseminaciones.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 340**

### PROYECTO CORAL

*Autor/a/s:* ROMERO GARCÍA, MARIA LUISA; VIRLÁN BOHORQUEZ, ROCÍO

*Centro de trabajo:* HOSP. UNIVERSITARIO VIRGEN DEL ROCÍO

*Provincia:* SEVILLA

*Correo electrónico del primer firmante:* marisaromga@gmail.com

## Introducción:

CORAL (Coordinación y Optimización de la Red Andaluza de los Laboratorios) es un proyecto del SAS para externalizar las pruebas diagnósticas en los diferentes hospitales de la red.

Se pone en marcha como proyecto piloto en 2010 entre los hospitales de Huelva y el H.U. Virgen del Rocío de Sevilla. Posteriormente se incorporan el Hospital de Valme y el de Osuna, de Sevilla. La filosofía de este proyecto es la de aprovechar los recursos de la red de hospitales para externalizar las pruebas que hasta ahora se venían enviando a laboratorios externos.

En 2012 cambia a PILA (Plataforma de Integración entre Laboratorios Andaluces), aunque los cambios en la forma de trabajar son mínimos. En breve nos incorporaremos nosotros como origen de peticiones.

Las peticiones que incluyan pruebas que no se realizan en los hospitales que trabajan con Coral se integran en la plataforma generándose una solicitud que junto con las muestras se envían al hospital de referencia donde se codifican y se confirman en Coral. De aquí pasan al SIL del laboratorio para su procesamiento y posteriormente se transmiten los resultados.

## Objetivo:

Valorar la eficacia de la sistemática establecida para el tratamiento y procesamiento de estas muestras.

Detectar incidencias y áreas de mejora en esta sistemática de trabajo ante futuras incorporaciones de nuevos hospitales

## Material y métodos:

Hemos recogido los datos obtenidos del procesamiento de 24.862 peticiones enviadas desde Abril de 2010 hasta Enero de 2012. Se han desglosado estas peticiones por procedencia y por tipo de muestra para valorar el transporte, la preparación previa de las muestras y por tipo de prueba para detectar las necesidades de cada hospital.

Se ha evaluado el proceso de trabajo en la plataforma Coral/Pila para detectar las incidencias y sus posibles mejoras, así como para valorar las cargas de trabajo añadidas con este proyecto en la recepción de muestras de H.U. Virgen del Rocío de Sevilla.

## Resultados:

En un primer paso se ha actualizado el Catálogo de pruebas que se oferta en la plataforma. Hemos detectado problemas en la definición de pruebas o en las condiciones de envío de las muestras. También se han detectado errores de comunicación entre la plataforma y los distintos SIL de los hospitales.

Tras estudiar las peticiones por origen de procedencia vemos que de Huelva se han recibido 5.116 peticiones, de las cuales 634 corresponden al Hospital de Riotinto y 4.482 al hospital Juan Ramón Jiménez. En esta provincia el hospital Juan Ramón Jiménez es el de referencia, por lo que las muestras que se remiten a Coral corresponden a pruebas que no se realizan en dicho hospital. Las muestras se reciben por empresas de mensajería y recibimos alícuotas de sueros, edta, orina y heces. En algunas ocasiones se reciben muestras congeladas.

Del Hospital de Valme (Sevilla) hemos recibido 17.346 peticiones y del hospital de Osuna 2.400 peticiones. En el caso de estos hospitales nosotros somos el hospital de referencia, si bien antes de trabajar con la plataforma CORAL ya recibíamos peticiones de algunas pruebas que ellos no realizaban por conexión entre los SIL de los hospitales. Las muestras recibidas también son alícuotas de suero, orinas, heces y edtas.

Por tipo de prueba observamos que las más solicitadas son los estudios de alergia, autoinmunidad, estudios de catecolaminas urinarias y estudios HLA y de inmunosupresores.

## Conclusiones:

Tras estudiar todo el proceso hemos detectado problemas informáticos de conexión entre Coral y los SIL de los hospitales.

Creemos que el proyecto ha aumentado la carga de trabajo de nuestra recepción de muestras al necesitar estas peticiones un procesamiento muy diferente al que realizamos habitualmente, ya que tenemos que identificar petición y muestra con un código de barras interno y luego procesarlas en Coral.

El transporte de muestras por empresas de mensajería dificulta la posible devolución de muestras erróneas y el envío de nuevas muestras por la distancia entre los centros. Asimismo algunas pruebas parecen difíciles de ofertar en Coral por los condicionantes de la muestra previos a su estudio, en concreto en el estudio de poblaciones celulares por la viabilidad de las mismas.

Una vez incorporadas estas peticiones a nuestro SIL se procesan igual que las que recibimos habitualmente y los resultados obtenidos se integran en Coral.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 345**

### EVALUACIÓN DE LA FASE PREANALÍTICA EN LA UCRE DEL HU VIRGEN DEL ROCÍO

*Autor/a/s:* ROMERO GARCIA, MARIA LUISA; VIRLAN BOHORQUEZ, ROCIO; LAGARDA ORTIZ, LOURDES

*Centro de trabajo:* HOSP. UNIVERSITARIO VIRGEN DEL ROCIO Localidad: SEVILLA

*Provincia:* SEVILLA

*Correo electrónico del primer firmante:* marisaromga@gmail.com

## Introducción:

El SAS recoge entre sus normativas el Protocolo de Acreditación de Laboratorios Clínicos, manual editado por la Agencia de Calidad Sanitaria de Andalucía para la acreditación de los Laboratorios y el Proceso Soporte de los Laboratorios Clínicos.

La recepción unificada de muestras del HU Virgen del Rocío está funcionando desde 1999. Recibimos muestras de los hospitales que integran nuestro centro, centros de diálisis, CHAREs, centros penitenciarios, plataforma Coral, 42 centros de atención primaria y 2 centros de especialidades de nuestra área de influencia, con un promedio de 3000/3500 pacientes/día y un total de 9800/10000 muestras/día. También gestionamos la entrada de las peticiones que se remiten para su estudio a laboratorios externos y del envío de los estudios genéticos que oferta nuestro hospital. En febrero del 2004 se reorganiza y comenzamos a trabajar manualmente con un programa informático de registro de muestras basado en PSM de Roche.

## Objetivo:

Evaluación de la fase preanalítica en nuestra recepción según parámetros establecidos en el Programa de Acreditación de Laboratorios Clínicos y en el Proceso Soporte de los Laboratorios Clínicos.

## Material y métodos:

Estudio del Protocolo de Acreditación de Laboratorios Clínicos y el Proceso Soporte de los Laboratorios Clínicos.

Comparación de los datos recogidos hasta 2005 con los evaluados en 2010 y 2011.

Evaluación del PSM de recepción de muestras y las mejoras propuestas para el registro de muestras.

Valoración de los nuevos proyectos asumidos por la recepción de muestras (Coral, envío de estudios genéticos, envíos a laboratorios externos, incorporación del Cribado Prenatal 1º Trimestre en el área)

Estudio del protocolo de trabajo en la unidad (entrada de peticiones y muestras, transporte, registro de muestras) y estudio de los diferentes tipos de solicitudes analíticas y de los distintos programas informáticos para su procesamiento.

## Resultados:

Hasta 2005 contabilizamos un total de 6818 muestra/día y un promedio de 2200/2400 pacientes/día. Tras el estudio de 2011 vemos que el número total de pacientes y peticiones ha aumentado, aunque el procesamiento de las muestras sigue siendo manual a través de PSM. Se han realizado propuestas de mejora en PSM para dar respuesta a las indicaciones de los diferentes destinatarios de las muestras y de las incidencias detectadas en el registro de las mismas y en algunos casos se han llevado a cabo.

La incorporación de nuevos programas como Coral y el Cribado prenatal ha necesitado de la creación de nuevos protocolos y rutas de trabajo, en gran parte con más complejidad que volumen de muestras.

El envío de muestras a laboratorios externos y de estudios genéticos ha necesitado de un registro independiente a los que ya realizábamos para obtener trazabilidad de las muestras.

En cuanto al rechazo de solicitudes por cumplimentación incorrecta, supone un problema a la hora de su devolución, ya que no siempre es posible detectar el punto de emisión de dicha solicitud o no tenemos forma de realizar esta devolución.

Existen dentro de nuestro laboratorio varios puntos de recepción y registro de muestras, lo cual a veces origina duplicidad de muestras con fechas diferentes en nuestro SIL.

### **Conclusiones:**

En la Recepción de muestras trabajamos diariamente con un gran volumen de muestras y peticiones de manera manual, tenemos gran variedad de solicitudes analíticas, varios programas informáticos, varios puntos de recepción y registro de solicitudes y muestras. Hemos detectado varias áreas de mejoras, necesarias para el inicio de la acreditación de nuestro laboratorio, entre ellas se encuentran:

Cumplimentación de las solicitudes analíticas correctamente. Incidir en las mejoras en la comunicación entre Aurora, Sidca y Omega. Se observan errores en la transmisión de datos, nº de historia duplicados, el mismo nº Nuhsa asociado a dos nº de historia en Sidca. Rechazo de solicitudes mal cumplimentadas.

Actualización y difusión de un manual de obtención de muestras y condiciones de envío según nuestra cartera de servicio. Implementación y mejoras en la petición electrónica de Sidca como alternativa a la variedad de solicitudes analíticas existentes. Información a los centros de AP y a las consultas de extracciones de estos centros de todos los cambios e incidencias detectados y visitas a los centros.

# ÍNDICE DE AUTORES

<b>Autor Primero</b>	<b>N.º Página</b>	<b>Autor Primero</b>	<b>N.º Página</b>
ACEBES GOZALO, JUDIT REBECA	9	CASTILLEJO, MARIA ISABEL	68
AGUILAR MONTESINOS, ANGELA	33	CASTRO GONZALEZ, ELISABETH	134, 135
AGUILAR RUBIO, JUANA	78	CERVILLA ROMAN, ANA	131
ALONSO DURAN, Mª DEL MAR	78	CIRIA TORCAL, ANA MARIA	50, 52
ALONSO LORITE, JESSICA	10	COLMENERO MARTOS, ANA MARIA	57
ALONSO MONJE, ANA LUISA	14	CONDE VICENTE, ROSA	59, 73
ALONSO POZA, GENOVEVA	41	CONTRERAS ALOMAR, MARIA	57
ALVAREZ ALLER, JULIA	33	CORONEL DIAZ, MARIA	114
ANTOMIL ANTUÑA, NATALIA	133	CORREDERA SANCHEZ, Mª ROSA	19
ARANDA ARANDA, MARIA DOLORES	105	CORRES MEDRANO, RICARDO	125
ARAS IBARZABAL, MONIKA	86	COZAR, PATRICIA	15
ARES VIDAL, OLGA	25	CREGO MARTIN, AMADOR	67
ARIAS GOMEZ, ROSA MARIA	80	CRIADO CASAS, VANESSA	48
ARRIBAS ARIBAS, FLORENCIA	102	CUADRADO BENITO, Mª TERESA	122
ATIENZA VERA, ASCENSION	38	CUBILLO MORENO ISABEL	64
AYALA ALVAREZ, GUSTAVO LEONARDO	63	CUELLAS GUTIERREZ, CONSTANTINA	102
BAENA MARTINEZ, MARI CARMEN	119	CHICOTE RAMOS, IRENE	14
BALBIN ARANEGA, MARIA CATALINA	108	DE LA FUENTE DIEZ, REBECA	11
BARBANCHO MARTIN, ALEJANDRO	109	DE LA FUENTE HUERGA, MARIA DEL CARMEN	42
BARBERAN ACEITUNO, CRISTINA	69	DE SAN JUAN PONCE, CARMEN	35
BARCIA BARRERA, JOSE A.	66	DEL ARBOL DEL ARBOL, MARIA OLGA	102
BARCIA BARRERA, JOSE A.	68	DEL DEDO TORRE, M. ANGELES	23
BARQUERO CAMPOS, DOLORES	36	DELGADO AGUERA, JOSE ANTONIO	86
BARRACHINA CARRANZA, SUSANA	37	DOMINGUEZ GARCIA, ESTER	116
BARRANCO TORRES, RAFAELA	118	DOMINGUEZ LOPEZ, Mª TERESA	115
BARREIRO CASTRO, BELEN	80	DOPICO VEIGA, EVA	97
BARRIOPEDRO HERRERA, FABIOLA	75	DURAN VAZ, MAGDALENA	6
BECERRA FERNANDEZ, DIEGO	47	ESCORIHUELA BAEZ, MARTA	66
BELENGUER GARCIA, Mª PILAR	40	ESPARTOSA MANCEBO, ELENA	81
BELTRAN BELTRAN, MARIA	18	FERNANDEZ CAMPOMANES, MARIA ROSARIO	90
BERA RIVERO, ISABEL	125	FERNANDEZ DIAZ, ANA M.	83
BERDAYES FERNANDEZ, MARIA	16	FERNANDEZ SANZ, JESUS	141
BERRAL BAENA, FRANCISCA	78	FERNANDEZ VALVERDE, MARIA LUISA	82
BERRAR COLMENERO, CONXITA	123	FERNANDEZ-CARRION PEREZ, MARIA DEL CARMEN	68
BORREGA GUILLEN, JOSEFA	103	FERRE, ROSER	132
BOSCH GOMEZ, IGNASI	139	FIGUEROBA GARCIA, MARIA DEL ROSARIO	110
CABALLERO MOYANO, FRANCISCO JAVIER	113	FRADE GARCIA, Mª ANUNCIACION	30
CABEZAS FERNANDEZ, SANDRA	65	FRANCO ALVAREZ DE LUNA, FRANCISCO	107
CALVENTE PEREZ, ANA	60	FRESNEDA DIAZ, CARMEN JOSEFA	85
CAMPAÑA MARIN, ARACELI	80	GALISTEO ESCORZA, ARANCHA	82
CAMPO, IRENE	132	GANDIA GONZALEZ, MARIA ARANZAZU	116
CAMPUZANO GRAU, YOLANDA	130	GARCIA CAMPOS, CONCEPCION	53
CANEDO GOMEZ, ANGELES	82	GARCIA CANCHO, LAURA	75
CANO MORILLAS, Mª DOLORES	4	GARCIA CENTENO, ROSA Mª	7, 8
CAÑELLAS NIETO, CRISTINA	115	GARCIA DE CACERES, MAYTE	73
CAÑELLAS, CRISTINA	112	GARCIA GARCIA, ELENA	125
CAPDEVILA LOZAR, CRISTINA	4	GARCIA GARCIA, PILAR	89
CAPON LOPEZ, ALICIA	131	GARCIA GARCIA, PILAR	89
CARDONA FARRIOL, JESSICA	55	GARCIA GUZMAN, CRISTINA	45
CARRERO BAZ, PILAR	67	GARCIA JIMENEZ, MARIBEL	121

<b>Autor Primero</b>	<b>N.º Página</b>	<b>Autor Primero</b>	<b>N.º Página</b>
GARCIA LAGAREJOS, LORETO	91	LOPEZ JESUS, ISABEL	18
GARCIA LOPEZ, MARIA DOLORES	86	LOPEZ PEREZ, CARMEN	55
GARCIA MATEOS, ESTEFANIA	98	LOPEZ SANCHEZ, ISABEL	44
GARCIA MONTES, ENCARNACION	42	LOPEZ VEGA, MARIA LUISA	12
GARCIA MONTES, M <sup>a</sup> TERESA	72, 91	LORENZO BELLIDO, ANA	27
GARCIA PALOMO, ANTONIA MARIA	85	LORENZO IGLESIAS, EVA M <sup>a</sup>	85
GARCIA PERELA, INMACULADA	23	LUCEÑO CASTILLA, YOLANDA	137
GARCIA PINO, SOFIA	60	LUGO GONZALEZ, MERCEDES	93
GARCIA RODRIGUEZ, DOLORES	20	LUQUE GARCIA, ANTONIO	70
GARCIA RODRIGUEZ, INMACULADA MARIA	79	LUQUE MORAL, JOSEFINA	104
GARCIA SERRANO, MARI CARMEN	56	MADRID ROSADO, SALVADOR	45
GARCIA VELA, JOSE HERMINIO	105	MAÑAS MARCUELLO, ANA LUISA	44
GARCIA-BERMUDEZ, EDURNE	13	MARIA DOMINGUEZ, BERNARDINA	117
GARCIA-TIRADOR, FRANCISCO	26	MARIN SERRANO, MARIA DEL CARMEN	15, 16
GARCIA-VAZQUEZ, CARMEN	138	MARLASCA GALLEG0, MARIA DEL MAR	34
GARRIDO HERRERO, SOFIA	99	MARTIN GUERRERO, ADELAIDA	88
GIL ALONSO , M <sup>a</sup> ANGELES	126	MARTIN RODRIGUEZ, LIDIA	93
GIL GALOCHINO, M <sup>a</sup> CARMEN	71	MARTIN ROMAN, SILVIA	4
GOMEZ RAMIREZ, RAQUEL	141	MARTIN VEGA, JOSE VALERIO	45
GOMEZ ROMAN, CARLOTA MARIA	22	MARTINEZ CAMEO, NIEVES FELISA	107
GOMILLA ORTEGA, M <sup>a</sup> JOSE	140	MARTINEZ FERNANDEZ, ANA	139
GONZALEZ BARRETO, INES	29	MARTINEZ MILAGRO, IRENE	81
GONZALEZ GARCIA, MARIA TERESA	108, 115	MARTINEZ MORALES, ELVIRA	124
GONZALEZ GONZALEZ, MARIA ELVA	129	MARTINEZ MORALES, MAR	72
GONZALEZ JIMENEZ, MYRIAM	32	MARTINEZ PAREDES, ANA YNES	100
GONZALEZ MACHO, MARIA PURIFICACION	25	MARTINO, MARIO	101
GONZALEZ MARTIN, SOFIA	48	MATILLA MATILLA, FELIX MIGUEL	11
GONZALEZ NAVARRETE, GEMA	100	MAURI CASTRO, M <sup>a</sup> CARMEN	59
GONZALEZ RIVERO, AMELIA	9	MENDEZ LOPEZ, ISABEL	123
GONZALEZ SANTOS, ANGELA	35	MENDEZ MARTINEZ, NANCY	58
GUERRA MONTAÑO, AMPARO	101	MENDOZA RUIZ, CARMEN	48
GUERRERO CASASOLA, AMALIA SANDRA	26	MEZO PEREZ, IZASKUN	62
GUERRERO CRESPILO, ANGELA MARIA	118	MILLAN MARTIN, JUAN CARLOS	28
GUILLEN ESTEBAN, CARMEN	87	MIRANDA ALFARO, GLORIA	98
GUILLEN ESTEBAN, PILAR	32	MOCHOLI MORENO, SUSANA	110, 111
HERNANDEZ BENITO, DEMETRIA	38	MONGE CAMACHO, MARIA DEL PATROCINIO	33
HERNICA ORTIZ ,RAFAEL	19	MONTERO RODRIGUEZ, LUIS ALBERTO	61
HERRANZ, MARTA	112	MONTES FLORES, ROSA MARIA	136
HORTIGÜELA, RAFAEL	13	MONTES JIMENEZ, INES	30
IGLESIAS OTERO, MARIA DEL SOL	96	MORAL MORAL, JUANA	75
IGLESIAS, CRISTINA	106	MORALES GALAN, CARMEN	100
INGELMO VEROZ, MARIA JOSE	28	MORALES GALAN, PILAR	121
ISNARD CARO, LEONARDO JESUS	121	MORALES SOLANA, AMALIA	131
JIMENEZ MARTI, LAURA	64	MORENO LOCUBICHE, MARIA ANGELES	18
JIMENEZ MARTINEZ, MARIA JOSE	84	MORENO PUERTAS, M.I.	127
JIMENEZ SERRA, MARIA GAJETANA	25	MORENO TORRES, BEATRIZ	137
LACARRA GARCIA, NATALIA	53	MORENO, ESTER	103
LAGARDA-ORTIZ, LOURDES	65	MOYA MORENO, MARIA TERESA	120
LIGERO MARTIN, GERTRUDIS	140	MOYA SAN PEDRO, MARIA ANGUSTIAS	92
LOPEZ ALVAREZ, FRANCISCA	129	MUÑO ANDRADE, MARIA JOSE	126
LOPEZ GARCIA, ANTONIO	6	MUÑOZ LINARES, ROSARIO	109
LOPEZ GARCIA, CONSUELO	54	MUÑOZ MARIN, MARIA FRANCISCA	20
LOPEZ GUTIERREZ, MONTSERRAT	138	MUÑOZ PRAENA, ANTONIA MARIA	118

<b>Autor Primero</b>	<b>N.º Página</b>	<b>Autor Primero</b>	<b>N.º Página</b>
NAVARRO LINARES, HECTOR	16	RODRIGUEZ RODRIGUEZ, INMACULADA	61
NAVAS JIMENEZ, LUIS CARLOS	8	RODRIGUEZ SANTIAGO, OLGA	10
NICOLAS CORRAL, MONTSERRAT	31	RODRIGUEZ TOLEDO, MARIA MILAGROS	58
NICOLAS DE LA PUENTE, JOSE MANUEL	53	RODRIGUEZLOPEZ-MOSQUERA, CARLOS	96
NIETO PERALES, PALOMA	55	ROLDAN MORENO, JOCABED	64
OLIVAN FELIPE, TERESA	123	ROMERAL MORALEDA, DOLORES	30
ORTEGA MARTINEZ, MARIA JESUS	50	ROMERO GARCIA, MARIA LUISA	143
ORTEGA PEREA, Mª CAPILLA	29, 34	ROMERO GARCIA, P.	46
ORTIZ REQUENA, PAQUITA	43	ROMERO GUTIERREZ, CARMEN	84
PACHECO GOMEZ, EVA MARIA	76	ROMERO ZARCO, MATILDE	65
PADROS RIBAS, NURIA	95	RUIZ FERRI, AMPARO	94
PARDO MOLINA, Mª BELEN	22	RUIZ MODREGO, ANA CRISTINA	40
PARIENTE JIMENEZ, PAQUITA	42	SACRISTAN FORMARIZ, VIRGINIA	114
PELAEZ NORA, YOLANDA	71	SAIZ PATON, ROSARIO	130
PERALES MOLADA, MARIA TERESA	44	SALINAS INIESTA, NOELIA	142
PEREZ ARIAS, MARIA DEL CARMEN	59	SALVADOR LORENZO, MARIA JOSE	122
PEREZ DUARTE, LUCIA	90	SAMPAYO NOVOA, PAULA	52
PEREZ GOMEZ, PEDRO	19	SAMPEDRO DE LA TORRE, INMACULADA CONCEPCION	108
PEREZ PEREZ, CAROLINA	95	SAN EMETERIO, JUANA	142
PEREZ PINAR, CARMEN	117	SANCHEZ BAEZA, A.	5
PEREZ SANTAMARIA, LOURDES YOLANDA	47	SANCHEZ PASTOR, SOFIA	99
PICO FERNANDEZ, FRANCISCO JAVIER	97	SANCHEZ PORRRAS, ANGELES	76
PIFARRE ARANDA, SHEILA	21,23	SANCHEZ REINA, MONTSE	70
PINA ECHEVARRIA, MARIA JOSE	38, 49	SANCHEZ UBEDA, ROSA	117
PINAR IRANZO, JOSE IGNACIO	56	SANTANA ARMAS, CARMEN PILAR	46
PLA RODRIGUEZ, LAURA	70	SANTOS NUÑEZ, AMPARO	56
PONFERRADA ARIZA, ELENA	24	SENAR PONTE, MERCE	93
PORCEL JABALERA, INMACULADA	27	SEOANE SEOANE, ALEJANDRO	6
PRATA, EMANUEL	136	SIMON PEREZ, GERMAN RUBEN	112
PRIETO CASADO, PABLO	127	SISO PEREIRO, MARIA ASCENSION	22
PRIETO DEL REY, ENCARNACION	128	SISO ROS, SONIA	134
PRIETO GRUESO, MONTSERRAT	77, 79	SIVIANES VALDECANTOS, MARIA NIEVES	120
PRIETO SAINZ, BELEN	34	SOISA LOPEZ, CAROLINA	57
PRIETO, MIRIAM	69	SOMAZA SERANTES, NATIVIDAD C.	124
PRIMO MARTIN, DAVID	39	SOUSA, AMAYA	141
PRO JIMENEZ, MARIA JESUS	24	TEBAR SALAZAR, JULIAN	132
QUESADA GARCIA, MARIA JOSEFA	87, 88	TORO BARNES, D.	127
RACIONERO HERNANDEZ, ANGELA	128	TORRES CARRASCO, ELENA	63
RAMOS FELEZ, ESTER	54	TORRES DIAZ, JAVIER LAZARO	111
RAMOS NUEZ, ANGELA Mª	101	TURIEL VICENTE, ROSARIO	13
RAMOS SIERRA, LETICIA	135, 136	ULLOA GUTIERREZ, MERCEDES	51
REDONDO SANCHEZ, YOLANDA	31	URCIA ROZAS, CARLOTA	36
REGO, ROSANA	94	VARELA SOTO, MARIA BEGOÑA GLORIA	89
REYMUNDO CUESTA, MANUELA	50	VAZQUEZ BARBA, ISABEL DOLORES	109, 119
RICO RODRIGUEZ, TRINIDAD YOLANDA	5	VAZQUEZ VIGO, MARTA	7
RIOS RAMOS, MARIA JOSEFA	28	VEGA VARGAS, CONCEPCION	99
ROBLES SOLANO, MAITANE	62	VELAZQUEZ MIRANDA, DOLORES	133
ROCA ARENAS, MELANI	119	VICEDO SANTOS, SONIA;	77
RODRIGUEZ CAMACHO, MARIA LUISA	43, 92	VIEIRA DE LA SILVA NAVARRO, ALEJANDRO	83
RODRIGUEZ CARREÑO, MIREIA	49	VIEIRO BALO, PAULA	11
RODRIGUEZ DEL ROSARIO, MARCOS JOSE	39	VILLARRUBIA MARTIN-VILLAMUELAS, ELVIRA	120
RODRIGUEZ LORENZO, LORENA	40	YANEZ PEREIRA, FRANCISCA	103
RODRIGUEZ MEIRIÑO, MARIA SAGRARIO	9		



**FUNDACIÓN · FRANCISCO  
SORIA MELGUIZO**