

**XXIV  
congreso**



**aetel**  
**granada**  
**2011**  
del 27 al 28 de mayo

**enfermedades  
virales  
emergentes**

— Comité Organizador —

<b>Presidente</b>	Juan Carlos Rodríguez Pérez
<b>Vicepresidente</b>	José Hermino García Vela
<b>Secretaría Técnica</b>	Enriqueta Pumarejo Gómez
<b>Secretaría de Finanzas</b>	María Dolores Mateos Sevillano
<b>Vocales Comité</b>	
<b>Organizador Local:</b>	Inmaculada Sampedro de La Torre
	Purificación Cámara Medina
	Luís Santos Gómez
	M. <sup>a</sup> Luisa Romero García.
	M. <sup>a</sup> Ángeles Corzo López
	Pablo José Torres Aragón
	Ana María Tomás Suárez
	Matilde Romero Zarco
	Aurora Suárez Martos

— Junta Directiva Aetel —

<b>Presidente</b>	Juan Carlos Rodríguez Pérez
<b>Vicepresidenta</b>	Patricia Fernández González
<b>Tesorera</b>	María Dolores Mateos Sevillano
<b>Secretaria</b>	Enriqueta Pumarejo Gómez
<b>Vocales</b>	Carmen Díaz González
	María Jesús Lagarto Benito
	Ángel Estébanez Gallo
	Ignacio Pulido Letrán
	Flora Sierra Puparelli
	José María González Herbón

— Comité Científico —

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



# SUMARIO

- Anatomía Patológica . . . . .	04
- Bioquímica . . . . .	20
- Genética . . . . .	62
- Hematología . . . . .	80
- Inmunología . . . . .	104
- Microbiología . . . . .	116
- Miscelánea . . . . .	158
- Índice de autores . . . . .	163

DIRECTOR Juan Carlos Rodríguez Pérez

CONSEJO REDACCIÓN Patricia Fernández González, M.<sup>a</sup> Dolores Mateos Sevillano, 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](mailto:salamanca@aetel.es)

EDITA AETEL

DISEÑO e IMPRESIÓN Alfredo Gráficos - [alfredograficos@alfredograficos.com](mailto: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 ORAL

Número: 038

## PREVALENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN CITOLOGÍAS DE CÉRVIX ANORMALES EN MUJERES RESIDENTES EN ÁLAVA, PAÍS VASCO

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: Domingo López, Aranzazu; García-Agenjo Martínez, M<sup>a</sup> del Mar; Ibáñez Ruiz, M<sup>a</sup> José; Delgado San Vicente, Diego; Rodríguez Velasco, María.

Centro de trabajo: Hospital Santiago. Sección Microbiología

Provincia: Álava

Correo electrónico del primer firmante: arantzadam@yahoo.es

### Introducción:

El Objetivo: del estudio fue analizar la prevalencia y distribución de genotipos de VPH en mujeres con diagnóstico de citología anormal de cérvix residentes en Álava, País Vasco.

### Métodos:

Se estudiaron 106 mujeres con citología de cérvix anormal atendidas en la consulta externa del servicio de Ginecología por citología anormal previa. Se procedió a la identificación de los genotipos del VPH mediante amplificación genómica y tipificación por hibridación reversa (Linear Array HPV Genotyping Test).

### RESULTADOS:

La prevalencia fue del 69,8%. Se detectaron 30 genotipos diferentes. Los genotipos de alto y posible alto riesgo fueron los más frecuentes en todos los tipos de lesión citológica en las mujeres VPH positivas (94,3%, 78,1% y 100% en atipia de significado incierto, lesiones de bajo y alto grado, respectivamente). Los ocho genotipos más frecuentes en las mujeres VPH positivas fueron el genotipo 16 (22 de 74, 29,7%), 51 (17,5%), 53 y 42 (16%, cada uno), 52 (12%), 39 (10,8%), 18 y 58 (9,4%, cada uno). Se detectó coinfección en el 58% de las mujeres VPH positivas, siendo más frecuente en las mujeres con lesiones de bajo grado. Tanto la detección de VPH como la coinfección disminuyeron con el aumento de la edad de las mujeres estudiadas.

### Conclusión:

Este estudio confirma la alta prevalencia de VPH y de genotipos de alto riesgo en mujeres con citología anormal que residen en Álava. Aunque el genotipo 16 fue el más frecuente, se detectó una amplia variedad de genotipos de alto riesgo no incluidos en las vacunas comerciales.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 115

## CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES COMO ORIGEN DE SARCOMAS

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: LAURA SANCHEZ CONTRERAS, GERTRUDIS LIGERO MARTIN, IVAN GUTIERREZ-ARANDA, RENE RODRIGUEZ GONZALEZ, RUTH RUBIO AMADOR, PABLO MENENDEZ-BUJAN.

Centro de trabajo: BANCO ANDALUZ DE CELULAS MADRE

Provincia: GRANADA

Correo electrónico del primer firmante: laura.sanchez.contreras@juntadeandalucia.es

### RESUMEN:

CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES COMO ORIGEN DE SARCOMAS

### Introducción:

Las células madre mesenquimales (MSCs) son células pluripotentes que constituyen una fuente de progenitores para tejidos mesodérmicos. Las propiedades intrínsecas de las MSCs las han convertido en el modelo celular más estudiado para un amplio abanico de aplicaciones terapéuticas. Sin embargo, recientes evidencias sugieren que las MSCs pueden ser la célula diana para distintas mutaciones responsables del desarrollo de ciertos sarcomas. La transformación tumoral de las MSCs está frecuentemente asociada a la inestabilidad cromosómica, poniendo de manifiesto la importancia de los mecanismos de control del ciclo celular en los procesos de transformación.

### Objetivo:

Teniendo en cuenta que las MSCs pueden ser la célula de origen de distintos tipos de sarcomas, nuestro Objetivo: fue conseguir modelos de esta enfermedad basados en la transformación tumoral de MSCs murinas a través de la manipulación del control de ciclo celular y/o de la Introducción: de genes de fusión específicos de sarcomas.

### Materiales y métodos:

Para este estudio se generaron cultivos de MSCs salvajes (wt), p53<sup>-/-</sup>, Rb<sup>-/-</sup> y p53<sup>-/-</sup>Rb<sup>-/-</sup> a partir de tejido adiposo de ratones en los que ambos alelos de dichos genes se encuentran flanqueados por secuencias LoxP. Igualmente, se consiguió la expresión ectópica del gen de fusión FUS-CHOP, característico del liposarcoma mixoide, en MSCs wt y p53<sup>-/-</sup> mediante transducción lentiviral. Posteriormente se caracterizaron las propiedades de crecimiento in vitro y la capacidad tumorigénica in vivo de los distintos cultivos.

### RESULTADOS: y CONCLUSIONES:

Al contrario que las MSCs wt o las Rb<sup>-/-</sup>, las MSCs p53<sup>-/-</sup> y las p53<sup>-/-</sup>Rb<sup>-/-</sup> fueron capaces de generar tumores in vivo cuando se inocularon en ratones inmunodeficientes. Estos tumores presentaban las características propias de los leiomiomas. Por otro lado la expresión del oncogén de fusión FUS-CHOP en MSCs p53<sup>-/-</sup>, aunque no en MSCs wt, dio lugar a la formación de tumores tipo liposarcoma in vivo. Por tanto, FUS-CHOP es capaz de redirigir la génesis y fenotipo del tumor aunque su expresión aislada no inicia sarcomagenesis. El estudio de estos modelos de sarcoma obtenidos a partir de las células que dan origen al tumor será de gran ayuda para el desarrollo de terapias más eficaces.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 116

## ENRIQUECIMIENTO DE CÉLULAS MESENQUIMALES MULTIPOTENTES HUMANAS DERIVADAS DE CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS CON PROPIEDADES INMUNOSUPRESORAS Y ANTI-INFLAMATORIAS CAPACES DE PROTEGER CONTRA ENFERMEDADES INTESTINALES INFLAMATORIAS

Trabajo de: Anatomía Patológica

Autor/a/s: Iván Gutiérrez Aranda, Laura Sánchez Contreras, Gertrudis Ligeró Martín, Ruth Rubio Amador, Martín Muñoz López, Jose Luis García Pérez, Pedro Real Luna, Clara Bueno, René Rodríguez, Mario Delgado, Pablo Menéndez

Centro de trabajo: Banco Andaluz de Células Madre

Provincia: Granada

Correo electrónico del primer firmante: ivan.gutierrez@juntadeandalucia.es

### Introducción:

Las células madre embrionarias humanas (hESCs) facilitan el acceso a las primeras etapas de desarrollo humano y pueden servir como una fuente ilimitada de células funcionales para futuras terapias celulares. Es crucial, optimizar métodos que permitan la diferenciación específica de las hESCs a precursores de un tejido específico.

### Objetivo:

A través de la inhibición específica de la ruta de señalización de Smad-2 / 3, hemos intentado generar de manera prospectiva células madre mesenquimales (MSCs) a partir de hESCs, con el fin de estudiar sus capacidades funcionales in vitro e in vivo.

### Material y métodos:

Las MSCs derivadas de hESCs, surgieron a partir de una población de células fibroblastoides que expresaban un fenotipo mesenquimal: CD73+, CD90+, CD105+, CD44+, CD166+, CD45-, CD34-, CD14-, CD19-, HLA-DR-. Después de 28 días de inhibición de Smad-2 / 3, los cultivos de células madre se enriquecieron (> 42%) en MSCs. Mediante FACS se aislaron las MSC-hESCs CD73+ CD90+ y se cultivaron in vitro durante numerosos pases. Estas células mostraron un mayor ritmo de crecimiento que el de las MSCs derivadas de otros tejidos, conservando la morfología y fenotipo característico de éstas. Las células mostraron un alto potencial de diferenciación osteogénica, adipogénica y condrogénica así como propiedades inmunosupresoras y anti-inflamatorias, in vitro e in vivo, y fueron capaces de proteger contra un modelo experimental de enfermedad inflamatoria intestinal (modelo de enfermedad de Chron basado en administración de TNBS). Es interesante que el enriquecimiento de células madre a través de las MSCs por inhibición de la señalización SMAD-2 / 3 no es reproducible con diferentes líneas de iPSC.

### RESULTADOS: y CONCLUSIONES:

Nuestros resultados proporcionan información a cerca de los mecanismos de diferenciación de hESCs en MSCs con propiedades inmunosupresoras y anti-inflamatorias con posibles aplicaciones clínicas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 119

## EFFECTO DE MLLAF4 EN CÉLULAS CD34 DE CORDÓN UMBILICAL Y hESCs COMO MODELO DE LA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA PRO-B DEL LACTANTE

Trabajo de: Anatomía Patológica.

Autor/a/s: LIGERO MARTÍN GERTRUDIS, SÁNCHEZ CONTRERAS LAURA, GUTIÉRREZ ARANDA IVÁN, BUENO UROZ CLARA, MONTES LORENZO ROSA, AYLLÓN CASES VERÓNICA, RAMOS-MEJÍA VERÓNICA, REAL LUNA PEDRO JOSÉ, MELÉN GUSTAVO



JAVIER, PLAZA CALONGE MARÍA DEL CARMEN, RODRIGUEZ - MANZANEQUE JUAN CARLOS, MENÉNDEZ BUJÁN PABLO

Centro de trabajo: BANCO ANDALUZ DE CÉLULAS MADRE

Provincia: GRANADA

Correo electrónico del primer firmante: gertrudis.ligero@juntadeandalucia.es

#### Introducción:

La leucemia linfoblástica aguda pro-B (LLA-proB) del lactante con reordenamiento MLLAF4 se caracteriza por su fatal pronóstico y su corta latencia. Sin embargo hasta la fecha todos los intentos que se han hecho para desarrollar un modelo de enfermedad sobre el que testar nuevos protocolos de tratamiento han fallado ya que no reproducen ni el fenotipo ni la latencia observados en los pacientes.

#### Objetivo:

El Objetivo: del presente trabajo se centro en desarrollar un modelo de LLA pro-B basado en la expresión ectópica de MLLAF4 en células neonatales -células CD34+ de cordón umbilical (CU-CD34+)-, y células prenatales -células madre embrionarias humanas (hESCs)-.

#### Material y métodos:

Para ello las células CD34+ de CU transducidas con MLLAF4 o GFP se transplantaron en ratones NOD/LtSz-Scid IL-2R<sup>-/-</sup> (NSG) para estudiar su función y su capacidad leucemogénica in vivo. In vitro se evaluó la capacidad clonogénica, proliferación y supervivencia. En las hESCs transducidas con MLLAF4 se evaluó in vitro su potencial de diferenciación a hemangioblasto y su posterior diferenciación a sangre y endotelio.

La expresión de MLLAF4 en CU-CD34+ aumentó significativamente su capacidad repobladora y su migración in vivo. Igualmente aumenta la proliferación y supervivencia in vitro así como su capacidad clonogénica. La Introducción: de MLLAF4 en hESCs promueve la especificación a hemangioblasto, sin embargo dicho hemangioblasto tiene comprometida su capacidad de formar sangre y presenta un aumento significativo de su potencial endotelial.

Ni en CU-CD34+ ni en hESCs la expresión de MLLAF4 es suficiente para desencadenar un proceso leucémico por lo que parece lógico pensar que a pesar de la corta latencia de la LLA pro-B del lactante, la expresión de MLLAF4 parece necesitar mutaciones secundarias para transformar CU-CD34+ y hESCs.

#### RESULTADOS: y CONCLUSIONES:

El efecto de MLLAF4 sobre el desarrollo embrionario del hemangioblasto hacia sangre y endotelio tiene implicaciones importantes y pone de manifiesto que tejidos no hematopoyéticos pueden formar parte del clon tumoral o estar al menos involucrados en la fisiopatología de la enfermedad.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 147

### INMUNOFENOTIPAJE EN BIOPSIAS GANGLIONARES POR CITOMETRÍA DE FLUJO

Trabajo de: Anatomía Patológica.

Autor/a/s: Núria Medina Esteban, Marta Aymerich, Neus Villamor

Centro de trabajo: Hospital Clínic Barcelona. Servicio: Anatomía Patológica

Correo electrónico del primer firmante: nurmedest@hotmail.com

**Introducción:** Los estudios fenotípicos en tejidos se realizan de manera rutinaria con técnicas inmunohistoquímicas (IHQ), mientras que en sangre se emplea de forma habitual citometría de flujo (CF). La utilización de CF después de obtener células en suspensión de tejido puede permitir ampliar el panel de anticuerpos a estudiar, reducir el tiempo hasta la obtención del resultado y mejorar la detección de restricción clonal.

**Objetivo:**s: Valorar la contribución al estudio inmunofenotípico mediante citometría de flujo al diagnóstico de la biopsia ganglionar.

**Material y métodos:** Se analizaron 380 ganglios, 25 bazos y 17 muestras de otros tejidos, que se incluyeron según el proceso habitual de patología y se procesaron por CF. Las células en suspensión se obtuvieron disgregando el tejido ganglionar con la base del embolo de una jeringa en medio de R.P.M.I. (con 10% de suero bovino fetal) repetidas veces, seguido de una filtración a través de una membrana de 70 µm, o bien por infiltración repetida de medio de cultivo con una aguja fina.

Las suspensiones celulares se marcaron con inmunofluorescencia directa aplicando un panel de anticuerpos frente antígenos B y T.

**RESULTADOS:** Se observó una buena correlación entre la presencia de malignidad en el tejido y la presencia de un patrón fenotípico anormal (218/250 casos) con la excepción del linfoma de Hodgkin (p<0.001). El valor predictivo negativo del estudio fenotípico por CF es de 0.52 y el valor predictivo positivo de 1. Por CF, se observó restricción de cadena ligera en 182 de 201 linfomas B y en 0 de 142 procesos no B.

El patrón de distribución de cadena ligera sólo pudo ser evaluado por IHC en 38 de 91 casos. La CF permitió un diagnóstico rápido de malignidad en patologías infrecuentes como el sarcoma granulocítico o el linfoma linfoblástico T, o casos de doble patología (1% de los pacientes).

**CONCLUSIONES:** La citometría de flujo es una metodología rápida y fiable para conocer el fenotipo de muestras de tejidos, que permite reconocer fácilmente diversas situaciones patológicas, procesos malignos infrecuentes y valorar la distribución de cadenas ligeras en los linfocitos B.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 152

### K- RAS: DIANA TERAPÉUTICA

Trabajo de: Anatomía Patológica.

Autor/a/s: Rosa Mª García Centeno, Mª Teresa Valdajos de la Fuente, Clementina Ballesteros Lopez, Mª Jesus Lagarto Benito, Raquel Bajo-Grañosa, Manuel García Teijeiro.

Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario de Valladolid

Provincia: Valladolid

Correo electrónico del primer firmante: rgcenteno@gmail.com

#### Introducción:

K-ras es una proteína de la cascada de señalización del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) además de un oncogen de la familia ras.

Un descontrol en la cascada del EGFR puede ser la causa de procesos neoplásicos debido a un incremento en el número de receptores del EGF, cuya estimulación induce la activación de la proteína Ras. Este es un receptor con actividad tirosina quinasa que ha sido implicado en la promoción de eventos neoplásicos como mitogénesis, inhibición de apoptosis, migración celular, angiogénesis y resistencia a las terapias.

Normalmente la activación del EGFR promueve la progresión del cáncer. Tras la unión del ligando la activación del EGFR provoca la transmisión de una señal intracelular a través de múltiples proteínas, entre ellas K-ras.

Esta señalización promueve la proliferación de las células cancerosas y la aparición de metástasis.

En presencia K-ras no mutado, las terapias anti-EGFR inhiben la progresión del cáncer bloqueando la activación del EGFR.

#### Objetivo:

Comprobar la utilidad clínica en el tratamiento del cáncer colorectal metastático.

#### MATERIAL Y METODOS:

Hemos analizado 50 pacientes, 52% de dichos pacientes son varones con edades comprendidas entre 36 y 70 años y el 49% son mujeres de edades comprendidas entre 47 y 84 años, todo ellos con un diagnóstico de adenocarcinoma. En nuestro laboratorio el diagnóstico de las mutaciones del gen K-ras la realizamos sobre tejido fijado en formalina y embebido en parafina, hemos realizado 5 cortes de 5 u a partir del cual se realiza una extracción de DNA por lisis del tejido con Proteinasa K. Con el DNA se realiza una PCR a tiempo real con el termociclador LightCycler 480 II de Roche.

#### RESULTADOS:

El resultado del trabajo ha sido que de 50 casos analizados, 23 han sido positivos siendo la mutación 12VAL la más repetida.

#### CONCLUSIONES:

Por todo ello creemos que la detección de mutaciones de K-ras se revela como una de las técnicas que pasara a ser de rutina en los laboratorios de anatomía patológica.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 157

### DESARROLLO DE MODELOS TUMORALES DERIVADOS DE PACIENTES CON CANCER DE MAMA PARA ESTUDIOS PRE-CLÍNICOS BASADOS EN TERAPIAS DIRIGIDAS

Trabajo de: Anatomía Patológica.

Autor/a/s: Pilar Antón, Marta Guzman, José Jimenez, José Maria Perez, Yasir Ibrahim, Josep Baselga

Centro de trabajo: VHIO (Vall d'Hebron Instituto de Oncología)

Provincia: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: panton@vhio.net

#### Introducción:

El cáncer de mama es el más frecuente en mujeres del primer mundo y la primera causa de muerte.

#### Objetivos:

Existe una falta de modelos pre-clínicos representativos de la enfermedad en un contexto tridimensional. Nuestro Objetivo: es crear un modelo animal que asemeje este tipo de cáncer para realizar estudios con terapias dirigidas.

#### Material y método:

Biopsias procedentes de tumores primarios y de metástasis de pacientes con cáncer de mama han sido implantadas subcutáneamente en ratones inmunodeprimidos. Las muestras tumorales se han expandido en dos fases consecutivas hasta obtener el número de animales necesario para realizar estudios de eficacia antitumoral y análisis de biomarcadores. Tras la primera fase de expansión se ha comparado la histología y el genotipo del modelo generado

con el tumor original del paciente. En la segunda fase de expansión (y subsiguientes) se han ensayado terapias dirigidas y combinaciones de ellas diseñadas de forma específica para cada tipo de tumor. Los estudios de eficacia antitumoral se han acompañado con un análisis exhaustivo de marcadores de inhibición de las vías de señalización afectadas por la terapia aplicada.

#### RESULTADOS:

Un 20% de los tumores implantados ha desarrollado un modelo tumoral que refleja la histología y genotipo del tumor original. En un modelo de cáncer de mama triple negativo se ha testado la administración conjunta de un inhibidor de la vía de PI3K en combinación con un inhibidor de MEK. Se ha observado un efecto aditivo en la combinación de los medicamentos, así como una atenuación de las vías de señalización implicadas.

#### CONCLUSIONES:

El modelo animal derivado de biopsias de cáncer de mama refleja la enfermedad y permite el estudio de combinaciones de terapias dirigidas in vivo, así como el análisis de biomarcadores.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 158

### APOD COMO MARCADOR PRONÓSTICO DEL ADENOCARCINOMA DE COLON

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* Rosa M<sup>a</sup> García Centeno, M<sup>a</sup> Teresa Valdajos de la Fuente, Raquel Bajo-Grañosera, Manuel García Tejeiro, Rosa Bustamante Bustamante,

*Centro de trabajo:* Hospital Clínico Universitario de Valladolid

*Provincia:* Valladolid

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

#### Introducción:

Apolipoproteína D (ApoD) es una glicoproteína de la familia de las lipocalinas unidora de pequeños ligandos hidrofóbicos como progesterona y ácido araquidónico.

En el plasma forma parte de los complejos HDL. En tejidos aumenta la expresión de ApoD con la edad y en patologías como el Alzheimer o la Esclerosis Múltiple dentro del sistema nervioso. ApoD se ha relacionado con la parada del crecimiento celular y se conoce que la expresión del gen está regulado por proteínas de la familia de p53, por lo que se relaciona con algunos tipos de cáncer como el de mama, ovárico, hepático y en astrocitomas, en los que ha sido propuesta como marcador de buen pronóstico.

En este trabajo hemos estudiado la relación de ApoD con el cáncer colorectal.

#### Material y métodos:

Se han estudiado 62 adenocarcinomas de colon y recto (de los cuales, 19 eran de Estadio I, 18 de Estadio II, 10 de Estadio III y 15 de Estadio IV). Se colectaron muestras de tejido tumoral y de mucosa sana. Una parte de cada uno de los tejidos se recogió congelada en nitrógeno líquido para posteriormente medir proteínas utilizando la técnica de inmunoblot. Otra parte del tejido fue recogida en RNeasy Lysis Buffer para su posterior extracción de RNA con TRIzol y medir la expresión génica mediante RT-PCR cuantitativa (usando sondas fluorescentes SYBR Green). Una última porción de tejido se destinó para realizar inmunohistoquímica y fue procesada según la rutina del Banco de Tumores del HCUV (Inmersión en TissueTek e isopentano).

#### CONCLUSIONES:

Hemos comprobado que en los adenocarcinomas de colon la expresión del gen de ApoD está reprimida. Esta represión es muy marcada en los tumores de Estadio I y mantenida en el resto de Estadios. La disminución de expresión del gen viene acompañada de una disminución de la cantidad de proteína en el tejido en todos los Estadios. Se observa un cambio en el patrón de distribución celular de la proteína, pasando de aparecer en células del mesénquima de la mucosa normal, a formar parte principalmente de los infiltrados inflamatorios en el Estadio I y de los núcleos necróticos en el Estadio IV. Estos RESULTADOS: podrían indicar un control a nivel transcripcional del gen de ApoD ejercido por las células tumorales. Apoyan también el hecho de que lo proponamos como complemento a las técnicas rutinarias de diagnóstico, demostrando que ApoD puede usarse como un marcador pronóstico también en el adenocarcinoma de colon.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 188

### CITOLOGÍAS ANALES: IMPORTANCIA EN EL DIAGNÓSTICO DE LESIONES DISPLÁSICAS Y CÁNCER ANAL EN PACIENTES VIH EN EL ÁREA NORTE DE TENERIFE

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* CARMEN MARIA GIL CASANOVA - TANIA VIÑA PEREZ - LETICIA MELGAR VILAPLANA - CANDELARIA GARCIA CASTRO - JUAN LUIS GOMEZ SIRVENT - ALEJANDRO JIMENEZ SOSA)

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO DE CANARIAS - LA LAGUNA - TENERIFE

*Provincia:* S/C DE TENERIFE

*Correo electrónico del primer firmante:* karmela37@hotmail.com

#### Introducción:

Actualmente más del 80% de los hombres homosexuales portadores del virus de la inmunodeficiencia adquirida (VIH), están infectados por el virus del papiloma humano (HPV), relacionados con lesiones displásicas anales y cáncer anal, de ahí la importancia de elaborar estrategias de cribado con las citologías anales para su detección precoz.

#### Objetivos:

Determinar la prevalencia de lesión escamosa intraepitelial anal, en pacientes portadores del virus VIH y su asociación con los siguientes factores:

Nivel de CD4

Carga Viral

Tratamiento antirretroviral

Relaciones sexuales de riesgo

#### MATERIAL Y METODOS:

Estudio observacional longitudinal prospectivo de 23 pacientes controlados en la consulta de Infecciosos de nuestro centro desde Septiembre de 2010 hasta el 15 de Febrero de 2011, de edades comprendidas entre 20-66 años. Incluimos a pacientes con historia de VIH y con presencia de los factores anteriormente descritos. Se excluyeron las citologías contaminadas y aquellas con el diagnóstico de ASCUS. A todos los pacientes se les realizó estudio de HPV, anoscopia, citología anal y biopsia en caso necesario. Los datos se analizaron con el programa SPSS.

#### RESULTADOS:

De los 23 pacientes estudiados se excluyó uno por citología contaminada y dos por presentar ASCUS. El 95% de los pacientes eran varones y el 5% eran mujeres. Del total de los pacientes, 70% presentaban citologías negativas y el 30% LSIL-HPV. El 40% de los pacientes tenían niveles de CD4 entre 250-500 c/mm<sup>3</sup>, de las cuales el 50% presentaba LSIL-HPV (p=0,845) y el otro 50% las citologías eran negativas. El 60% restante tenían niveles de CD4 mayor de 500 c/mm<sup>3</sup> y de estos el 83,3% presentaba citología anal negativa. El 55% de los pacientes tenía carga viral indetectable y de estos el 27,2% presentaban LSIL-HPV. El 90% de los pacientes estaba con tratamiento antirretroviral. El 10% de los pacientes tenía HPV confirmado y el resto están en estudio.

#### CONCLUSIONES:

El diagnóstico de los tumores del ano suele realizarse cuando aparece la sintomatología, lo cual implica que la enfermedad se encuentra en fase avanzada. La prevalencia de esta patología ha aumentado en los pacientes VIH y está relacionado con el HPV. La citología anal es un examen sencillo y costo-efectivo que permite hacer Screening en poblaciones de riesgo para evitar la aparición de cáncer anal.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 206

### VIRUS BK EN PACIENTES CON TRASPLANTE RENAL. CULPABLE O INOCENTE?

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* M<sup>a</sup> Jesús Fernández Orgales, Magali Piso Neira, Alejandro Seoane Seoane, María del Mar Pérez Costoya, Josefa Buena Cruz, Ihab Abdulkader Nallib, José Cameselle-Teijeiro, Jerónimo Forteza Vila.

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

*Provincia:* A Coruña

*Correo electrónico del primer firmante:* maria.jesus.fernandez.orgales@sergas.es

#### Introducción:

El virus BK es un virus de ADN de la familia de los Poliovirus aislado por primera vez en 1971, a partir de la orina de un paciente con trasplante renal. Puede transmitirse a partir de los fluidos respiratorios, la orina o vía transplacentaria e infectar el sistema respiratorio, riñones y cerebro (a veces mortal al causar leucoencefalopatía multifocal progresiva). La infección primaria ocurre en edades tempranas y el virus BK puede permanecer latente en el tracto urogenital, especialmente en riñón. Su reactivación suele producirse en estados de inmunosupresión, como ocurre en algunos pacientes trasplantados. Debido a que la nefropatía producida por el virus BK puede llevar a la pérdida del injerto renal, su diagnóstico es muy importante dado que los datos clínicos no permiten diferenciar entre la nefropatía inducida por el virus BK y el rechazo agudo, y ambos procesos tienen tratamiento diferente. En estos pacientes, la incidencia es mayor en los 3 meses post-trasplante y puede ocasionar una nefropatía túbulointersticial, ulceración y estenosis uretral así como una cistitis hemorrágica. En el presente estudio se describen dos casos de infección por BK en varones de 49 y 52 años, con trasplante renal, deterioro de la función renal y sospecha de rechazo agudo.

#### Objetivos:

Se pretende mostrar la importancia de diferentes técnicas anatomopatológicas (citología, histología, inmunohistoquímica, microscopía electrónica y técnicas moleculares) en la identificación de la nefropatía por el virus BK y su diagnóstico diferencial con el rechazo agudo.

#### Material y métodos:

El análisis se realizó a partir de las muestras de orina y de biopsia renal en ambos pacientes. Las muestras de orina se procesaron utilizando el ThinPrep Pap Test, (TPPT, Hologic, Malborough, Massachusetts). Además del estudio histológico convencional

(H&E) del tejido renal, se procedió al estudio inmunohistoquímico sobre secciones en parafina usando el sistema EnVision (Dako, Glostrup, Dinamarca), que utiliza un polímero de dextrano ligado a peroxidasa para evitar falsas positividades por la biotina endógena o la actividad biotina-like, utilizando como anticuerpo primario un anticuerpo comercial monoclonal específico, SV40 (SV40T-Ag, Oncogene Research products, Cambridge, MA, Estados Unidos). Se pudo realizar extracción de ADN del tejido de biopsia con el sistema QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, The Netherlands) de acuerdo con las instrucciones del fabricante y tras la PCR se realizó una secuenciación bidireccional mediante electroforesis capilar (ABI3730, Applied Biosystems). Para completar el estudio, también se realizó el estudio de microscopía electrónica a partir de tejido fresco de dichas biopsias, que se había fijado en glutaraldehído, con post-fijación en tetróxido de osmio e inclusión en epoxi resina de Spurr.

#### RESULTADOS:

En el examen histológico convencional pudo realizarse el diagnóstico de infección por el virus BK tras reconocer el efecto citopático viral que ya había sido detectado en algunas células de la muestra urinaria (células decoy). Estos hallazgos fueron confirmados por la positividad inmunohistoquímica para el antígeno SV40, la presencia de cápsides virales intranucleares en el estudio ultraestructural y por la detección de la secuencia que codifica para el antígeno T grande del virus BK en la secuenciación directa.

#### CONCLUSIONES:

Nuestros hallazgos en ambos casos confirman la utilidad de diferentes técnicas anatomopatológicas (citología, histología, inmunohistoquímica, microscopía electrónica y técnicas moleculares) para el diagnóstico de la nefropatía por virus BK y su diagnóstico diferencial con el rechazo agudo.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 216

### ANÁLISIS DE GANGLIO CENTINELA DE MAMA EN EL HOSPITAL RIO HORTEGA TRAS LA IMPLANTACIÓN DE LA TÉCNICA OSNA.

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* Francisco José Ortega Rojo, Marta González de la Parra y Raquel Muñiz Rocas.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO RIO HORTEGA (VALLADOLID)

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

**Introducción:** La biopsia selectiva de ganglio centinela (GC) en cáncer de mama se viene realizando en el Hospital Universitario Río Hortega desde hace más de 10 años y de forma protocolizada con estudio intraoperatorio desde hace 8 años. El protocolo de actuación comenzaba con el estudio intraoperatorio de los ganglios centinela mediante cortes en congelación y posteriormente se procesaba la muestra en parafina utilizando cortes a 5 niveles diferentes del ganglio. El protocolo de tinción constaba de 14 tinciones de HE, 5 tinciones de citoqueratina AE1/AE3 y un portaobjetos se guardaba para reserva, haciendo un total de 20 cortes. Con este tipo de protocolo se emitía un diagnóstico provisional intraoperatorio y el diagnóstico definitivo se emitía 7 o 10 días después de la intervención una vez concluido el estudio histológico definitivo.

A partir de enero de 2010 se implantó una nueva técnica molecular para el estudio intraoperatorio definitivo del GC, la técnica de OSNA (One Step Nucleic acid Amplification). Es una técnica de replicación RT-LAMP, a temperatura constante y a tiempo real con la que medimos de manera semi-cuantitativa la CK19, a través de la turbidez obtenida durante la replicación del ARNm por acción del pirofosfato de magnesio. El proceso automatizado se realiza como una biopsia intraoperatoria, utilizando todo el ganglio linfático en fresco, mientras la paciente está en quirófano. Una vez disecados los ganglios de la grasa, se homogeniza la muestra, se extrae una suspensión de la misma, se realizan una serie de diluciones y posteriormente se introduce en la máquina que realiza la PCR RT-LAMP. Durante este proceso (que suele durar entre 20 y 30 min.) se mide la turbidez de la muestra que se correlaciona con la cantidad de ARNm de CK19 y a su vez con el número de células tumorales existentes en la muestra (ganglio).

**Objetivos:** Análisis de los resultados obtenidos del estudio del ganglio centinela en cáncer de mama mediante el sistema OSNA durante el primer año de implantación y optimización del mismo y comparación de sus RESULTADOS: con los obtenidos por el método histológico antes descrito en los años 2008 y 2009.

**Material y métodos:** Se obtienen los datos de las pacientes intervenidas de cáncer de mama a las que se les aplicó la técnica de ganglio centinela durante el año 2008, 2009. Se analizan el nº de ganglios estudiados en cada caso y los RESULTADOS obtenidos. Se obtienen también el nº de pacientes intervenidas en 2010, el nº de ganglios analizados con el sistema OSNA y sus resultados, comparando ambos métodos. Se hace referencia a los problemas y ventajas encontrados en el manejo de la nueva técnica.

#### RESULTADOS:

2008: 56 pacientes y 99 ganglios, promedio 1,76 ganglios por paciente. 8 pacientes con resultado negativo en intraoperatoria y positivo con el estudio posterior en parafina. 25% de los ganglios positivos. 26% de las pacientes con metástasis.

2009: 59 pacientes y 112 ganglios, promedio 1,9 ganglios por paciente. 10 pacientes con resultado negativo en intraoperatoria y positivo con el estudio posterior en parafina. 17% de los ganglios positivos. 16% de las pacientes con metástasis.

2010: 80 pacientes y 196 ganglios, promedio 2,45 ganglios por paciente. 25% de los ganglios positivos. 40% de las pacientes con metástasis.

El sistema OSNA analiza cada muestra por duplicado (una muestra normal y una diluida) cuando los datos de la muestra normal son erróneos (inhibición de la muestra) y analiza los datos de la muestra diluida. Durante 2010 esto ocurrió en 10 ganglios. Comprobamos que una de las inhibiciones se produjo por una excesiva cantidad de CK19 en la muestra y el resto fueron debidas a las características químicas o presencia de sustancias inespecíficas (sales, colágeno, otras moléculas) en el ganglio que interfieren en la reacción inhibiéndola.

**CONCLUSIONES:** Con la implantación de esta nueva técnica el Hospital Universitario Río Hortega incrementó en un 74% el nº de pacientes intervenidas con el protocolo de ganglio centinela. Se eliminó el porcentaje de pacientes que fueron reintervenidas para la realización de linfadenectomía axilar, dicho porcentaje en 2008 fue del 14% y en 2009 del 17%. Esto supuso una mejora en la calidad del tratamiento de las pacientes al eliminar las reintervenciones y un gran ahorro económico así como un mejor tratamiento de la enfermedad.

También observamos un incremento en el promedio de ganglios por paciente que tras la implantación de la nueva técnica OSNA pasó de 1.76 y 1.9 en 2008 y 2009 respectivamente a 2,4 ganglios por paciente en 2010. Esto es debido a que tras la implantación de la nueva técnica que diagnostica las metástasis existentes en un periodo de unos 30 minutos, el cirujano en muchas de las intervenciones envía junto al ganglio centinela los ganglios siguientes, esto se debe a la baja fiabilidad por parte del cirujano al ser ésta una técnica novedosa. Según la experiencia de otros hospitales esta fiabilidad aumenta con el paso del tiempo. También influye que la capacidad de análisis del OSNA es de 4 muestras. El porcentaje de positividad en las muestras es variable entre los 3 periodos analizados, encontrando pequeñas diferencias entre los periodos previos a la implantación de la técnica OSNA. La gran diferencia encontrada en este campo es el aumento significativo en el nº de pacientes con metástasis que en 2008 y 2009 era de un 26% y 16% respectivamente y en el periodo 2010 pasó a ser de un 40%. Este incremento se debe a que con la técnica en parafina se analiza una parte de tejido desperdiciando tejido en el desbastado y corte del bloque tanto en congelación como en parafina y dejando parte del tejido en archivo de bloques de parafina sin analizar, con la técnica OSNA se analiza la totalidad del tejido

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 248

### LA INFECCIÓN DEL HPV Y HSV, ¿PODRÍA SERVIR COMO MARCADOR PREDICTIVO DE LA MALIGNIZACIÓN DE LESIONES EN CÁNCER DE CUELLO UTERINO?

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* Couso Folgueiras, M<sup>a</sup> Elena; Rico Rodríguez, Trinidad Yolanda; Vieiro Balo, Paula; Insua Santamaría, Dora Cristina; Fernandez Campos, M<sup>a</sup> Inés

*Centro de trabajo:* Hospital Clínico Universitario (CHUS)

*Localidad:* Santiago de Compostela. *Provincia:* A Coruña

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

#### Introducción:

El virus del papiloma humano está estrechamente relacionado con lesiones precancerosas y cancerosas en cérvix uterino. El largo intervalo entre la Lesión Intraepitelial Escamosa de Bajo grado (LSIL) y el cáncer cervical, así como la alta incidencia de infección por HPV en mujeres sexualmente activas, sugieren diversos cofactores asociados, que juegan un papel importante en la progresión a malignidad de las lesiones cervicales inducidas por HPV. El Herpes simplex, ha sido largamente sospechoso de actuar como cofactor en el desarrollo del cáncer cervical; otros virus herpes son potencialmente candidatos. Desde el punto de vista epidemiológico y bioquímico se clasifican los HPV en dos grupos: alto riesgo y de bajo riesgo. El HPV 16 que pertenece al grupo de alto riesgo, ha sido el más ampliamente estudiado y sirve como prototipo para el estudio de la carcinogénesis viral.

#### Objetivos:

Estudiar la relación entre HPV 16 y otros genotipos de HPV de alto riesgo, con diferentes virus de la familia Herpesviridae, en pacientes con lesiones precancerosas (CIN I y ASCUS).

#### Material y métodos:

A partir de muestras de citología vaginal en medio líquido (ThinPrep), realizamos la determinación de virus herpes, mediante la técnica CLART ENTHERPEX del laboratorio Genómica, siguiendo instrucciones del propio fabricante.

Se hicieron tres grupos experimentales: grupo A con 14 muestras positivas para HPV 16; grupo B con 14 muestras que presentan coinfección con distintos HPV, y grupo C con 8 muestras negativas para HPV y cuyo diagnóstico citológico era normal. Este último lo consideramos nuestro grupo control.

#### RESULTADOS:

-En el grupo A: el 57,14% fueron negativas para virus herpes y el 42,7% positivas. De las cuales 28,5% EBV+, y 14,2% H.SV VI+.

-En el grupo B: 85,7 % fueron negativas para virus herpes y el 14,2% positivas, de las cuales 7,1% son EBV+ y 7,1% HSV VI+.

-En el grupo C: el 87,5% fueron negativas y el 12,5% positivas para CMV

#### CONCLUSIONES:

En la muestra los casos que eran positivos sólo para HPV 16 presentaban mas probabilidad de infección por virus herpes. En el grupo de muestras con genotipos positivos para varios

HPV la probabilidad por infección por herpes era similar a las pacientes negativas para el papiloma virus.

Los datos obtenidos sugieren que la coinfección con HPV 16 y virus herpes en fases tempranas de la lesión podría utilizarse como marcador de posible malignización de la lesión, lo que serviría para identificar aquellas pacientes que requerirían un seguimiento más exhaustivo.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 249

### PROCESAMIENTO DE MUESTRAS. ESTUDIOS FARMACODINAMICOS EN PACIENTES ONCOLÓGICOS DE ENSAYOS CLÍNICOS.

*Trabajo de:* ANATOMÍA PATOLÓGICA

*Autor/a/s:* Sánchez Vilchez, Gertrudis; Díaz García, M<sup>a</sup> Ángeles; Peiró Navalpotro, Nerea; Ovalle Ribeiro, Elena; Jimenez Flores, Jose A.

*Centro de trabajo:* Hospital universitario Vall d'Hebrón, servicio patología-molecular.

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* gesanche@vhebron.net

#### Introducción:

La farmacodinámica es el estudio de los efectos bioquímicos y fisiológicos de los fármacos y de sus mecanismos de acción y la relación entre la concentración del fármaco y el efecto de éste sobre un organismo. Uno de los puntos importantes en un ensayo clínico en oncología es observar y cuantificar el efecto producido por un fármaco en pacientes, mediante la obtención de biopsias seriadas durante el tratamiento. Utilizando dichas biopsias podemos realizar diferentes técnicas, entre las que se encuentran, la inmunohistoquímica, búsqueda de mutaciones génicas y otros estudios genómicos. Dependiendo del tipo de estudio que se quiera realizar, las biopsias deben ser procesadas de diferente manera.

#### Objetivos:

Debido a que los tiempos de preservación de las fosfoproteínas y del RNA son muy cortos (20-30 minutos) es importante garantizar una buena calidad de las muestras obtenidas; la optimización de los procesos y circuitos para la obtención y conservación del material biopsiado es primordial.

#### Material y métodos:

El material obtenido se procesa de las siguientes formas para los distintos fines diagnósticos:

- Fijación en formol e inclusión en parafina.
- Congelación en OCT y almacenaje a -80°C.
- Congelación en nitrógeno líquido y almacenaje a -80°C.

Para el control de calidad de nuestras muestras realizamos los siguientes procesos:

- Bloques de parafina.
- OCT y nitrógeno líquido.

Para la recogida del material, el personal técnico se desplaza a las diferentes unidades donde se realizan las biopsias para garantizar los tiempos óptimos de fijación/congelación. Las biopsias destinadas a hacer bloques de parafina son sumergidas inmediatamente en formol pre-enfriado a 4°C y procesadas dentro de las 6-24 horas siguientes a su extracción, dependiendo del tamaño de la misma.

Las muestras congeladas son introducidas inmediatamente en nitrógeno líquido (-196°C) utilizando un contenedor específico y almacenadas en congeladores de -80°C.

#### RESULTADOS Y CONCLUSIONES:

Durante los años 2009 y 2010 hemos participado en 28 ensayos clínicos, de los cuales hemos obtenido las siguientes muestras:

- 1249 tejidos fijados en formol e incluidos en parafina.
- 1261 tejidos congelados en nitrógeno líquido y conservados a -80°C.
- 259 tejidos congelados en OCT y conservados a -80°C.

Se han realizado controles de calidad adecuados al empleo de cada muestra y hemos obtenido los siguientes resultados:

- Muestras Incluidas en Parafina: Preservación de las fosfoproteínas en un 96% de las muestras analizadas y del 99% en la cantidad-calidad de ADN extraído.
- Muestras Congeladas: Preservación de las fosfoproteínas en un 93% de las muestras analizadas, del 99% en la cantidad-calidad de ADN extraído y del 93% en la calidad del ARN extraído.

La optimización de los circuitos de recogida y procesado es el factor determinante a la hora de considerar la calidad de las muestras y su eficiente utilización, de manera que éstas provean información fidedigna que justifique su recolección.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 303

### APLICACION DE INMUNOCITOQUIMICA EN EL DIAGNOSTICO DE TUMORES DE PULMON EN MATERIAL OBTENIDO POR PUNCION ASPIRACION AGUJA FINA

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* MARIA ANGELES PACIOS PACIOS; ELENA JULIA ALONSO MORRONDO; ROBERTO RODENAS FERNANDEZ; FRANCISCA PORRAS TRIGO; ESTEFANIA MOYANO

SANZ:MARIA GUTIERREZ MATEOS;ESTHER ALONSO ESCUDERO; CARMEN GARCIA MACIAS.

*Centro de trabajo:* Servicio de Anatomía Patológica-Hospital Universitario de Salamanca

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

#### Introducción:

La alta incidencia del carcinoma pulmonar en ambos sexos y su mal pronóstico dependiendo del tipo histológico, unido a la gran utilidad de la técnica de punción aspiración con aguja fina (PAAF) para la obtención de material adecuado para la aplicación de técnicas de inmunocitoquímica en dichas muestras, justifica la realización del presente estudio por su importancia en el diagnóstico y tratamiento de los carcinomas de pulmón.

#### Objetivo:

Aplicar paneles de inmunocitoquímica en extensiones celulares obtenidas por PAAF que permitan realizar diagnósticos diferenciales correctos.

#### Material y métodos:

El estudio se efectúa sobre material obtenido por PAAF de 116 casos registrados durante el año 2009 de pacientes con imagen radiológica de tumoración pulmonar en los que se realiza PAAF, unos trans-bronquial y bajo control de eco-endoscopia, otros sin control radiológico, y un tercer grupo bajo control de TAC (tomografía axial computerizada).

La Técnica de hematoxilina-eosina permitió controlar la cantidad y calidad del material recibido y realizar el diagnóstico de benignidad ó malignidad. Una vez realizado el diagnóstico citológico del material, en los casos donde no se puede afirmar tumor primitivo pulmonar o metastásico y en los primitivos indiferenciados se aplican técnicas de inmunocitoquímica que permitan dar un diagnóstico de precisión.

Con el panel de inmunocitoquímica determinamos:

1- diferenciación histológica de los tumores primitivos pulmonares:

1a- Carcinoma indiferenciado no microcítico sospechoso de epidermoide.

TTF1 +/-, P63 +, Napsin A -, CK7 +

1b- Carcinoma indiferenciado no microcítico sospechoso de adenocarcinoma.

TTF1+, P63-, Napsin A+, CK7+

1c- Carcinoma microcítico.

Sinaptofisina +, Cromogranina +, Enolasa Neuronal específica +, CD56 +,

2- Tumores metastásicos en pulmón:

TTF1, CK7, CK20, CDx2, CD10, ALC, CD125. Pudiendo aplicar cualquier otro tipo de técnica inmunocitoquímica dependiendo de la sospecha citológica.

#### RESULTADOS:

De los 116 casos estudiados, se necesitó determinar diagnóstico diferencial mediante panel de inmunotinción en 76 de ellos, de los cuales 32 fueron carcinoma epidermoide, 27 adenocarcinoma, 8 carcinoma microcítico y 9 metastásicos.

#### CONCLUSIONES:

En este estudio hemos podido comprobar la sensibilidad y especificidad de la técnica inmunocitoquímica aplicada a las muestras obtenidas mediante PAAF en lesiones neoplásicas pulmonares sospechosas mediante imágenes radiológicas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 304

### DETERMINACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE TRES PROTOCOLOS DE LISIS PARA LA EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE EXTENSIONES CELULARES

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* MARÍA ANTONIA NÚÑEZ GARCÍA; MARÍA DEL CARMEN RODRÍGUEZ GONZÁLEZ; ELENA JULIA ALONSO MORRONDO; MARÍA ISABEL GARCÍA MARTÍNEZ; BELÉN RIVAS MARCOS; RUTH GERVÁS RÍOS; JUAN JOSÉ GARRIDO GALLEGO

*Centro de trabajo:* Servicio Anatomía Patológica-Hospital Universitario de Salamanca

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

#### Introducción:

Las actuales técnicas diagnósticas basadas en biología molecular están cada día más presentes en los laboratorios, lo cual nos lleva a la necesidad de establecer protocolos de actuación que determinen unos **RESULTADOS**: finales exitosos.

#### Objetivo:

Evaluar tres protocolos de lisis y purificación en la extracción de ADN, a partir de extensiones celulares teñidas previamente con Papanicolaou, para posteriormente determinar el estado de ADN y su viabilidad para técnicas de biología molecular (EGFR, HPV y K-RAS).

#### Material y métodos:

El estudio se efectúa sobre extensiones citológicas (esputos) teñidas con Papanicolaou, de seis pacientes con patología pulmonar neoplásica, en los que se requiere una extracción de ADN para estudios posteriores de biología molecular.

Se toman de cada caso tres portas, se recupera el material raspando el porta y se resuspenden con buffer de lisis.

Cada caso se somete a tres protocolos distintos:

Protocolo A: Con 180 µl de muestra se utilizó el kit comercial QIAamp® DNA Mini Kit siguiendo el protocolo de lisis y purificación para sangre y tejidos que marca el proveedor. Ambos pasos se realizan de manera automática con QIAcube de QIAGEN.

Protocolo B: 25 ¼l de proteinasa K (Genómica) con 180 ¼l de muestra a 56° en termobloque 2 horas.

- La muestra resultante se somete a una nueva lisis y purificación de manera automática con QIAcube.

protocolo C: 25 ¼l de proteinasa K con 180 ¼l de muestra a 56° en termobloque 2 horas.

- La muestra resultante se somete a una purificación automática con buffer purification QIAamp DNA FFPE para tejidos.

Para la determinación de la calidad del ADN extraído se realizaron lecturas de absorbancia en el Nanodrop.

#### RESULTADOS:

	Protocolo	A	Protocolo	B	Protocolo	C
	ADN	Sales	ADN	Sales	ADN	Sales
1	16'6	2'18	20,0	1.99	69'1	1'94
2	5'4	2'20	9'3	2'12	17'5	2'00
3	3'7	2'87	8'6	2'24	24'0	2'29
4	3'5	2'34	3'7	2'32	21'0	2'05
5	8'4	2'24	7'1	2'04	19'1	2'12
6	1'5	3'17	0'7	-1'61	4'4	2'98

Se considera como ADN con un buen nivel de pureza cuando estos valores se encuentran >10 ng / ¼l y unos valores de concentración de sales entre 1'6 y 2'4.

El protocolo C, probó ser el más eficiente para extraer ADN a partir de extensiones celulares previamente teñidas.

#### CONCLUSIONES:

El trabajo realizado pone de manifiesto que el material recogido para estudio citológico también es útil y viable para la elaboración de técnicas de biología molecular que deriven en un diagnóstico concreto y un tratamiento personalizado.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 306

### LINFOMA T CUTANEO EN CELULAS DEL DONANTE EN PACIENTE TRASPLANTADO DE MEDULA OSEA.DEMOSTRACION MEDIANTE TECNICAS DE LABORATORIO

Trabajo de: Anatomía Patológica.

Autor/a/s: NOELIA MACIAS GONZALEZ; PILAR SANTAMARIA BASILIO; ANGUSTIAS PEREZ SANCHEZ; JOSE FERNANDO PEREZ-FONTAN FERNANDEZ; GRACIA MONESCILLO MARTIN; MIRIAM NAVAS PALENCIA; ANGEL SANTOS-BRIZ TERRON

Centro de trabajo: Servicio Anatomía Patológica-Hospital Universitario Salamanca

Correo electrónico del primer firmante: elenajuliaster@hotmail.com

#### Introducción:

Los linfomas T cutáneos en pacientes trasplantados suelen ser poco frecuentes y más aun cuando se trata de trasplantes alogénicos de médula ósea. Presentamos el caso de un paciente varón con antecedentes de linfoma no Hodgkin que desarrolla una lesión cutánea linfoproliferativa tipo T después de recibir un trasplante hematopoyético.

#### Objetivo:

Determinar, mediante técnicas de laboratorio, el diagnóstico de linfoma T cutáneo en paciente trasplantado de médula ósea.

#### MATERIAL Y METODOS:

Paciente varón de 56 años, con antecedentes de linfoma no Hodgkin, receptor de trasplante de médula ósea de su hermana. Pasados seis años acude con lesiones cutáneas de tres meses de evolución que no mejoran con tratamiento tópico con corticoides. Se realiza biopsia cutánea que tras fijación formólica e inclusión en parafina se procesa para estudios histológicos, inmunohistoquímicos y FISH( hibridación in situ de sondas marcadas con fluorescencia). Se reserva material en fresco para estudios moleculares de PCR y Quimerismo.

#### RESULTADOS:

Los cortes histológicos teñidos con Hematoxilina-eosina mostraron un denso infiltrado celular de linfocitos con morfología atípica. Se realizó un panel de marcadores linfocitarios, obteniendo positividad para los antígenos: CD3; CD4; CD5 y CD7, y negatividad para CD8 y CD56, con un índice proliferativo (Ki67 del 20%). Estudios moleculares mediante PCR para detectar rearrreglos del gen receptor de células T de la cadena  $\gamma$  mostró clonalidad de células T. Las sondas para los cromosomas X e Y marcadas con fluorescencia en la hibridación in situ muestran cariotipo XX en las células neoplásicas, en contraste con el cariotipo XY en las células cutáneas. El estudio de quimerismo por microsatélites demostró que las células neoplásicas procedían de la donante.

#### CONCLUSIONES:

de los resultados obtenidos se deduce que estamos ante un nuevo caso de linfoma T post-trasplante de precursores hematopoyéticos, y el primero con afectación primaria cutánea.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 315

### GANGLIO CENTINELA DE MAMA: RENOVARSE O MORIR. ARN VS CONGELACION

Trabajo de: Anatomía Patológica.

Autor/a/s: Carmona Manzaneda, Noemí; Cerdán Tudela, Miriam; Román Ruiz, Jenifer; Hurtado Mas, Silvia; Gabaldón Ortega, Francisco Javier; Peg Cámara, Vicente.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Vall d'Hebron. Servicio de Anatomía Patológica. Barcelona.

Correo electrónico del primer firmante: noe\_702@hotmail.com

**Introducción:** No cabe duda que hoy en día todo el mundo conoce la existencia del ADN. En el año 1953 Watson y Crick descubrieron la doble hélice, quien iba a decir que su descubrimiento acabaría siendo utilizado en el diagnóstico intraoperatorio del ganglio centinela en el cáncer de mama, en concreto, valorando el ARN.

**Objetivo:** Dar a conocer el uso del ARN mensajero de la citoqueratina 19 para el diagnóstico de metástasis.

Comparar el proceso convencional (impronta y criocorte) de las muestras de ganglio centinela de mama con el método OSNA(One Step Nucleic Amplification). Valorar las ventajas e inconvenientes del procesamiento de las biopsias intraoperatorias del ganglio centinela de mama por congelación y por el método OSNA.

**Material y métodos:** Estudiamos 97 ganglios de 48 pacientes por congelación y por el método OSNA para la detección de la citoqueratina 19 en el ganglio centinela.

**PROCEDIMIENTO:** A cada ganglio centinela se le realizan 4 cortes sagitales y los fragmentos obtenidos de forma alterna se destinan a los 2 métodos a comparar.(1-3 o 2-4). Las dos partes de ganglio para estudio convencional se analizan por impronta, congelación de los fragmentos, corte en el criostato y tinción con Hematoxilina/Eosina y posterior estudio en parafina.

Las otras dos partes restantes se homogenizan, se extrae el ARN mensajero y se obtienen dos muestras, una concentrada y otra diluida para la detección de la citoqueratina 19 por el método OSNA.

**RESULTADOS:** De 97 ganglios analizados correspondientes a 48 pacientes:

-Por el método convencional el 76% de ganglios fueron negativos, en un 7% se detectaron células aisladas y el 17% restante fue positivo, de los cuales en un 11% se diagnosticaron macrometástasis y en un 6% micrometástasis.

-Por el método OSNA se detectaron un 67% de ganglios negativos, en un 7% se detectaron células aisladas y un 26% de casos positivos, de los cuales un 17% correspondieron a macrometástasis, un 9% a micrometástasis.

En lo que se refiere al tiempo empleado en realizar la técnica por el método convencional se tarda una media de 28,12 minutos. Este diagnóstico no siempre es definitivo con lo cual debe realizarse el estudio en parafina y como consecuencia se alarga en 2 o 3 días el diagnóstico definitivo.

El tiempo medio empleado en la técnica OSNA es de 41,13 minutos y conseguimos el diagnóstico definitivo.

**CONCLUSIONES:** El tiempo que se tarda en dar un diagnóstico intraoperatorio es muy importante. Ciertamente es que por el método convencional éste es mucho más rápido pero no definitivo.

Gracias al método OSNA se puede analizar la totalidad del ganglio. Es una técnica automatizada, reproducible y elimina la subjetividad. Nos proporciona un diagnóstico.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 316

### RECOMENDACIONES PARA LA CORRECTA REALIZACIÓN DEL MÉTODO OSNA EN EL ANÁLISIS DEL GANGLIO CENTINELA DE MAMA.

Trabajo de: Anatomía Patológica.

Autor/a/s: Cerdán Tudela, Miriam; Carmona Manzaneda, Noemí; Hurtado Mas, Silvia; Román Ruiz, Jenifer; Gabaldón Ortega, Francisco Javier; Iglesias Felip, Carmela.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Vall d'Hebron. Servicio de Anatomía Patológica. Barcelona.

Correo electrónico del primer firmante: miryamct@hotmail.com

#### Introducción:

El método OSNA (One Step Nucleic Acid Amplification) es una técnica molecular cuantitativa recientemente validada para el estudio intraoperatorio del ganglio centinela de mama. Se basa en la detección en la totalidad del ganglio del ARN mensajero de la citoqueratina 19. El ARN es una estructura poco estable, con lo cual para trabajar con él se deben tener en cuenta ciertas recomendaciones.

#### Objetivo:

Analizar en una serie de casos los problemas detectados debidos a defectos en la manipulación del ganglio y, basándonos en los resultados, proponer algunas recomendaciones para evitar posibles errores diagnósticos.



## Material y métodos:

Entre mayo y diciembre de 2010 se estudiaron 288 ganglios correspondientes a 139 pacientes. El procedimiento requiere que todo el material que está en contacto con la muestra sea estéril. Cuando se recibe el ganglio, el patólogo retira la grasa que lo acompaña con la ayuda de pinzas y bisturí estériles. El ganglio se pesa, se corta homogéneamente y se introduce en un tubo falcon que contiene Linorhag, reactivo necesario para evitar la degradación del ARN. El técnico tritura el ganglio con una pala de homogenización durante un minuto y medio. Se procede a la extracción del ARN hasta obtener dos muestras, una concentrada y otra diluida. Por último, se introducen las muestras en el analizador para obtener el resultado.

## RESULTADOS:

Únicamente en 3 de los 288 ganglios analizados el resultado obtenido no fue válido por defectos en la realización de la técnica. En 2 casos se produjo contaminación de la muestra por no realizar el tallado sobre una superficie desinfectada. En el tercer caso no se pudo analizar la muestra por un exceso de grasa -como consecuencia de no retirarla bien del ganglio- y por no pipetear correctamente.

## CONCLUSIONES:

Nuestra experiencia corrobora la necesidad de una correcta manipulación de la muestra, trabajando sobre una superficie desinfectada y con material estéril. Es también importante disecar el ganglio cuidadosamente, evitando la presencia de grasa acompañante que pueda interferir en el análisis. En la mayor parte del proceso el técnico juega un papel muy importante y, junto al patólogo, deberá constituir un buen equipo de trabajo para conseguir los resultados adecuados y, así, el óptimo aprovechamiento de esta técnica molecular novedosa y de gran fiabilidad diagnóstica.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 317

## MANEJO DE LAS MUESTRAS OFTALMOLÓGICAS EN EL LABORATORIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA.

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* Carmona Manzaneda, Noemí; Cerdán Tudela, Miriam; Gabaldón Ortega, Francisco Javier; Román Ruiz, Jenifer; Hurtado Mas, Silvia; Magrans Breu, Pilar; Huguet Redecilla, Pere.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Vall d'Hebron. Servicio de Anatomía Patológica. Barcelona.

*Correo electrónico del primer firmante:* noe\_702@hotmail.com

## Introducción:

En el éxito de un buen diagnóstico histopatológico y citológico en el Servicio de Anatomía Patológica intervienen muchos factores:

La correcta obtención de la muestra.

El envío de la muestra en condiciones óptimas.

Rapidez en el transporte si se envía en fresco.

Fijador adecuado según el proceso a realizar.

Buena manipulación en los diferentes pasos hasta llegar al patólogo.

## Objetivos:

Dar a conocer a los Técnicos Superiores en Anatomía Patológica y Citología los conocimientos básicos de nuestro laboratorio sobre la manipulación y procesamiento de las muestras oftalmológicas.

## MATERIAL Y MÉTODO:

En el año 2010 se recibieron en el Servicio de Anatomía Patológica 30200 biopsias de las cuales 193 fueron oftalmológicas. Estas muestras procedían de: Párpado: 75, Córnea: 56, Conjuntiva: 19, Órbita: 16, Evisceración: 11, Piel: 9, Músculo: 4, Exenteración: 3.

Todas las biopsias tienen un procesamiento común: Muestreo de la pieza, fijación en formol al 10% tamponado, inclusión en parafina, confección del bloque, corte y tinción con Hematoxilina-Eosina.

Por otra parte se recibieron 25350 citologías de las que 33 fueron oftalmológicas.

Según el tipo de citología se procesan de una forma u otra:

- Procesamiento del humor vítreo: Obtención de la muestra por PAAF, recepción de la muestra en el laboratorio de citología, centrifugación a 500 rpm y se obtienen 2 preparaciones, una se fijará al aire para su posterior tinción con Diff-Quick y la otra se fijará en alcohol para tñirla con Papanicolaou.

- Procesamiento de la citología exfoliativa mediante raspado: Obtención de la muestra por contacto del ojo con un portaobjetos, fijación con Cytospray y tinción con PAPANICOLAOU.

- Procesamiento de la citología de impresión: Obtención de la muestra por contacto del ojo con papel Microporeado, fijación con Cytospray y tinción con PAS.

## RESULTADOS:

Cada tipo de muestra se envía a diferente laboratorio para tratarla como muestra citológica o histológica. Su manipulación es diferente y con nuestros resultados y la información clínica ayudará al patólogo a dar un buen diagnóstico.

## CONCLUSIÓN:

La fijación debe realizarse lo más rápido posible para conseguir que los tejidos conserven

su arquitectura celular.

La manipulación de las muestras es diferente y con el procesamiento de ellas y la información clínica ayudará al patólogo a realizar un buen diagnóstico.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 329

## (MÉTODO MOLECULAR PARA EL ANÁLISIS DEL GANGLIO CENTINELA AXILAR EN CARCINOMAS DE MAMA)

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* ( ENGRACIA SANTÍN PIEDRAFITA, PAZ CASTRO VAL , M<sup>º</sup> LUZ BALTASAR MOREIRA JOSÉ MARÍA GONZÁLEZ HERBÓN, NURIA GONZÁLEZ DORADO, LOURDES RODRÍGUEZ CASADO, ANA LUISA ALONSO MONJE, ROSARIO TURIÉL VICENTE, ANGELA MIGUELEZ SIMÓN)

*Centro de trabajo:* (COMPLEJO ASISTENCIAL UNIVERSITARIO DE LEÓN)

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

## Introducción:

El ganglio centinela de mama (GCM) es el primer ganglio linfático regional que recibe la linfa de la zona donde se asienta el tumor, constituyendo un escalón en la progresión de la enfermedad. Su detección es importante para evitar la práctica de una linfadenectomía regional completa evitando problemas secundarios para la paciente.

El estudio del GCM lo realizábamos a través de la biopsia intraoperatoria, pero actualmente se utiliza el método OSNA (Amplificación de un solo paso de ácidos nucleicos) que es una tecnología rápida y directa, para detectar la citoqueratina 19 RNAm presente en los nódulos linfáticos regionales metastásicos del carcinoma de mama.

## MATERIAL:

En el Complejo asistencial universitario de León desde junio del 2009 hasta diciembre del 2009 se han estudiado 54 casos de GCM.

Desde junio del 2010 hasta diciembre del 2010 se han estudiado 58 casos de GCM.

## MÉTODOS:

Junio 2009-diciembre 2009: Estudio intraoperatorio y estudio posterior en parafina (morfológico con H-E e inmunohistoquímico con citoqueratinas).

Junio 2010-diciembre 2010: Estudio cuantitativo del RNAm de la CK19 (Método OSNA) e interpretación (- negativo, + micrometastasis y ++ macrometastasis) durante la intervención quirúrgica.

## RESULTADOS:

Junio 2009-diciembre 2009: Negativos 41, positivos 14 de estos 6 se diagnosticaron a través de la intraoperatoria y 8 por el estudio en parafina.

Junio 2010-diciembre 2010: Negativos 29, positivos 29 de los cuales 17 fueron macrometastasis y 12 micrometastasis.

## CONCLUSIONES:

El método OSNA permite el diagnóstico definitivo durante la intervención quirúrgica evitando segundas intervenciones.

Debido a su alta sensibilidad y especificidad (100%) detecta micrometastasis que pueden pasar inadvertidas con otros métodos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 330

## (EXPRESIÓN DE LOS RECEPTORES DE MELANOTINA MT1 Y MT2 POR INMUNOFUORESCENCIA INDIRECTA EN PACIENTES CON NEUROFIBROMATOSIS TIPO1)

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* (ROSARIO TURIÉL VICENTE, ISIS ATALLAH, ENGRACIA SANTÍN PIEDRAFITA, RAQUEL GONZÁLEZ MARTÍNEZ, LOURDES RODRÍGUEZ CASADO , ANA LUISA ALONSO MONJE, M<sup>º</sup> LUZ BALTASAR MOREIRA, PAZ CASTRO VAL , JOSÉ MARÍA GONZÁLEZ HERBÓN, TERESA RIBAS ARIÑO)

*Centro de trabajo:* (COMPLEJO ASISTENCIAL UNIVERSITARIO DE LEÓN)

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

## Introducción:

La melatonina es una hormona secretada por la glándula pineal siguiendo un patrón circadiano. Tiene un papel importante en la regulación de tumorigénesis por la unión de receptores de alta afinidad (MT1 y MT2) y baja afinidad (MT3).

La neurofibromatosis tipo 1 (NF1) es una enfermedad neurocutánea de herencia autosómica dominante que predispone a la formación de tumores benignos del sistema nervioso periférico: neurofibromas cutáneos (NFC) y neurofibromas plexiformes (NFp). El 30% de los NFp suele malignizar y transformarse en un tumor maligno de la vaina del sistema nervioso periférico (MPNST).

Varios estudios han sugerido un déficit de melatonina en varias complicaciones asociadas a la NF1. Además, moscas *Drosophila* mutantes para NF1 muestran una alteración completa del ritmo circadiano.

El principal objetivo de este proyecto fue estudiar el patrón de expresión de los receptores MT1 y MT2 en los tumores neurocutáneos asociados a la NF1.

## MATERIAL:

Estudiamos 57 tumores primarios asociados a la NF1 (NFc 25; NFp 19; MPNST 13). Anticuerpos: MEL-1AR (V-15), MEL-1BR (T-18) y donkey anti-goat IgG-FITC de Santa Cruz Biotechnology.

## MÉTODOS:

La expresión de MT1 y MT2 fueron estudiados por inmunofluorescencia indirecta en secciones de parafina usando anticuerpos policlonales de cabra MEL-1AR y MEL 1 BR.

## RESULTADOS:

MT1	CASOS	NEGATIVOS	POSITIVOS	PORCENTAJES DE POSITIVOS
NFc	25	0	25	100%
NFp	19	1	12	95%
MPNST	13	5	8	61%

MT2	CASOS	NEGATIVOS	POSITIVOS	PORCENTAJES DE POSITIVOS
NFc	25	1	14	93%
NFp	19	6	13	68%
MPNST	13	2	11	84%

## CONCLUSIONES:

Aunque la técnica de inmunofluorescencia se recomienda realizar sobre tejido en congelación nosotros solo disponíamos de muestras en parafina obteniendo unos resultados óptimos. Siendo además una técnica sensible para el estudio de los receptores MT1 y MT2.

La melatonina tiene una actividad oncostática en varios tipos de cáncer, incluyendo tumores de origen mesenquimal como los asociados a la NF1, y parece actuar sinérgicamente con otros agentes quimioterapéuticos. La mayoría de los tumores asociados a la NF1 expresaron MT1 y MT2, por lo que los pacientes podrían beneficiarse de la administración terapéutica de melatonina nocturna.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 342

## EFFECTO DE LA IL-10 SOBRE LA FUNCIÓN DE BARRERA DEL EPITELIO CORNEAL EN UN MODELO DE INFLAMACIÓN IN VITRO

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* Antonio López-García, Laura Contreras-Ruiz, Laura García-Posadas, Isabel Arranz-Valsero, Yolanda Diebold.

*Centro de trabajo:* Instituto de oftalmobiología aplicada (IOBA)

*Provincia:* Valladolid

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

## Introducción:

La superficie ocular es una estructura mucosa expuesta a una gran variedad de agentes ambientales, potencialmente nocivos. Dentro de esta estructura, el epitelio de la córnea forma una barrera que no sólo regula el movimiento pasivo de las moléculas, sino que también evita la entrada de material extraño al ojo. La función de barrera del epitelio corneal puede verse alterada como consecuencia de varios factores, siendo la inflamación uno de los más importantes. Se sabe que las células epiteliales de la córnea participan activamente en procesos inflamatorios, expresando moléculas co-estimuladoras y de adhesión en respuesta a diferentes citoquinas, como por ejemplo TNF $\pm$  (factor pro-inflamatorio) e IL-10.

## Objetivo:

Evaluar el efecto de la IL-10 en la función de barrera corneal mediante estudios funcionales en un modelo in vitro de inflamación ocular.

## Material y métodos:

Se cultivaron células epiteliales de córnea humana (línea celular HCE) sobre una membrana de policarbonato, con 0,4 micras de poro (placa Transwell® de 24 insertos). El medio de crecimiento fue DMEM-F12 suplementado con 15% de FBS, 100U/ml de penicilina, 0,1 mg/ml de insulina, 100 µg/ml de EGF, 0,5% de DMSO y 1 mg/ml de toxina colérica. Se dejaron crecer durante 8 días hasta que se formó una monocapa celular. Las células se incubaron con medio sin suplementos durante 24h, posteriormente, fueron estimuladas con 25 ng/ml de TNF $\pm$ , 20 ng/ml de IL-10 y una combinación de IL-10 y TNF $\pm$  (10 ng/ml cada una) durante 48h.

Se realizaron ensayos funcionales para evaluar el efecto de las diferentes condiciones inflamatorias en la función de barrera del epitelio corneal. La evaluación incluyó mediciones de resistencia eléctrica transepitelial (TER) y de permeabilidad transepitelial (TEP).

El ensayo de TER permitió medir la resistencia al flujo de iones a través de la monocapa celular con el sistema de Millicell-ERS (Millipore, Billerica, MA, EE.UU.). Los resultados se expresaron como la resistencia de la muestra en relación con la del control sin estimular.

El ensayo de TEP determinó la permeabilidad de la monocapa epitelial a la difusión de fluoresceína sódica a través de la barrera celular. Para este ensayo se añadieron 200

µl de fluoresceína al 0,02 % en la parte superior del Transwell® y se incubó a 37°C durante 30min. Posteriormente se recogió el medio de la parte inferior del Transwell® y se cuantificó la fluoresceína presente midiendo la absorbancia a 490 nm con un lector de placas SpectraMax multidetection® M5 (Bionova científica S.L.). Los resultados se expresaron como % de fluoresceína retenida respecto al control. Ambos estudios se llevaron a cabo por triplicado (N=3).

El análisis estadístico se llevó a cabo mediante un ANOVA de dos factores. Se consideraron como diferencias significativas  $p \leq 0.05$  (\*).

## RESULTADOS:

Se vio una disminución significativa en los valores de TER en las células estimuladas con la citoquina pro-inflamatoria TNF $\pm$  y fueron un 10% más permeables que las células control. La citoquina IL-10 (anti-inflamatoria) no indujo cambios significativos en los valores de TER ni en los valores de TEP.

Con el fin de evaluar un efecto protector de la IL-10 en la función de barrera de la córnea se estudiaron el TER y el TEP en las células HCE tras la exposición combinada a las citoquinas TNF $\pm$  e IL-10. Ambos valores fueron significativamente mayores después de la co-estimulación en comparación con los valores obtenidos tras la estimulación con TNF $\pm$  en solitario. Este resultado indica que las células expuestas a TNF $\pm$  presentan menos resistencia eléctrica y más permeabilidad a la fluoresceína que cuando está presente la IL-10.

## Conclusión:

TNF $\pm$  e IL-10 alteran la función de barrera del epitelio corneal. IL-10 desempeña un papel protector en la barrera corneal mientras que TNF $\pm$  estaría implicado en su deterioro. Además, la IL-10 sería capaz de contrarrestar, en cierta medida, el efecto del TNF $\pm$ .

Financiación: CICYT MAT2007-64626-C02-01 y Acción Integrada-España/Alemania DE2009-0085; Ministerio de Ciencia e Innovación.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 343

## MODELO ORTOTOPICO EN CANCER DE MAMA.

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* Antonio Luque García / Marta Escorihuela Baez

*Centro de trabajo:* VHIO (Vall d'Hebron Institut Oncològic)

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* antluque@ir.vhebron.net

## Introducción:

El cáncer de mama es el tumor más frecuente en las mujeres occidentales. En España se diagnostican alrededor de 22.000 nuevos cánceres de mama cada año. Gracias a los programas de detección precoz y a los avances en el diagnóstico y tratamiento cada día es mayor el número de mujeres que viven con el cáncer de mama y lo superan. La investigación es fundamental para lograr mejores resultados en la lucha contra el cáncer. Concretamente, el desarrollo de modelos animales que reproduzcan tumores humanos puede ayudar a avanzar en el tratamiento de este tipo de cáncer.

## Objetivos:

El objetivo de nuestro trabajo es la obtención de tumores en ratón con las mismas características fenotípicas que los tumores de mama humanos, partiendo de células individuales de muestras de pacientes.

## Material y métodos:

Ratones NOD/ SCID de 3 semanas.

Muestras de pacientes (cáncer de mama) proporcionadas por el hospital.

Material de cirugía.

Sutura Polypropileno.

Anestesia (Ketamina + Xilacina).

Analgésicos (Metacam).

Caliper Digital.

Chips identificativos.

Lector de chips.

La obtención de muestras de pacientes se realiza con el consentimiento de un comité ético del hospital. Una vez tenemos la muestra de paciente en el laboratorio, se disgrega hasta obtener células individuales (epiteliales, fibroblastos, etc.), estas células serán las que se inyecten previa disección parcial de la mama 4 o 6 del animal, con la que se eliminan las células epiteliales murinas, favoreciendo el crecimiento de células humanas y no de ratón. Desde el primer momento de la operación el agua que beben los animales se trata con B-Estradiol y antibiótico. Durante las siguientes semanas se hace un seguimiento del ratón, observando si hay crecimiento tumoral, en caso positivo se mide semanalmente hasta que se alcanza un máximo estipulado por el comité ético de animales.

## RESULTADOS:

Durante el año que hemos llevado a cabo esta técnica hemos obtenido un 15% de crecimiento de tumores de pacientes en ratón.

## CONCLUSIONES:

Los tumores obtenidos en los ratones reproducen el fenotipo del tumor original. El porcentaje de crecimiento obtenido se encuentra dentro de lo esperado según publicaciones del campo.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 357

## OPTIMIZACIÓN E IDENTIFICACIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE CD133 Y CD166 COMO MARCADORES DE CÉLULAS MADRE EN TEJIDO FIJADO E INCLUIDO EN PARAFINA

Trabajo de: Anatomía Patológica.

Autor/a/s: Barberán Aceituno, Cristina; Aroca Siendones, M Inés; Gómez Ramírez, Raquel; Ayala Moscoso Benilde; Sánchez López, Ana María; Navarro Linares, Héctor; De la Cueva Batanero, Paloma; Sáez Castillo, Ana Isabel.

Centro de trabajo: Nodo de Coordinación de la Red de Bancos de Tumores de Andalucía Servicio:

Provincia: JAEN

Correo electrónico del primer firmante: cristina.barberan.exts@juntadeandalucia.es

## Introducción:

La RBTA está organizada como un servicio público comprometido con el fomento de la investigación del cáncer. Entre sus objetivos se encuentra ofrecer los tumores adecuadamente caracterizados con criterios morfológicos y moleculares. Estos criterios se encuentran constantemente en continua revisión. Una de las líneas de investigación con claro impacto en la tipificación de los tumores, es la caracterización de las células madre de las que proviene el tumor. Numerosos hallazgos identifican estas células con la progresión del tumor y la resistencia a los tratamientos. Por ello, la RBTA está incorporando técnicas de detección de marcadores de este tipo de células.

El CD133 y CD166 se han descrito como marcadores de células madre tumorales en varios tipos de tumores y se han utilizado en diferentes estudios para la separación de subpoblaciones y el testado de su potencial tumorigénico. De ahí la gran utilidad y potencial que ofrece la detección y caracterización de los mismos en los diferentes tipos de tejido.

## Objetivo:

El objetivo de este trabajo es optimizar la detección de estos marcadores mediante inmunohistoquímica en tejido fijado e incluido en parafina en una serie de tejidos controles.

## Material y métodos:

El procedimiento seguido para la incorporación de nuevos marcadores ha seguido la siguiente estrategia: a) elección de la clona con las mejores referencias en la literatura, b) selección de los controles de expresión, c) identificación del mejor procedimiento de desenmascaramiento antigénico y detección del antígeno, d) determinación de la concentración de Ac primario, e) revisión de los resultados en la serie control y en la serie de tumores a estudiar.

En la serie de tejidos seleccionada, se incluyeron secciones completas de bloques de amígdala reactiva, seminoma, colon normal, piel, así como secciones de tejido representativos de una serie de carcinomas colorrectales. Esta selección de tejidos nos permitirá valorar la expresión en los distintos componente tisulares y celulares y fenómenos (proliferación, quiescencia, necrosis, apoptosis, efectos de mala fijación, & ). En cada ensayo se incluyeron controles negativos omitiendo el anticuerpo primario.

Para el desenmascaramiento antigénico se utilizó el método HIER (Heat-induced epitope retrieval) mediante aplicación de calor y presión, realizado en PT Link de Dako, con las soluciones Target Retrieval Solution, Low (Tampón Citrato, pH 6) y Target Retrieval Solution, High (Tampón EDTA, pH 9). Para la detección del antígeno se probaron concentraciones decrecientes del anticuerpo, diluido en EnVision™FLEX Antibody Diluent, y varias condiciones de incubación: 1 hora, 2 horas y toda la noche a 4 °C. Como sistema de detección se utilizó Dako EnVision™FLEX, con visualización de la reacción mediante DAB+ Chromogen. Para finalizar se evaluó la expresión en los diferentes tejidos y en cada uno de los componentes histológicos que los componían.

## RESULTADOS:

La clona seleccionada, la identificación del mejor procedimiento de desenmascaramiento y condiciones más adecuadas de dilución e incubación del anticuerpo primario se resumen en la tabla adjunta.

Anticuerpo	Clona, casa comercial, referencia. Desenmascaramiento antigénico	Dilución	Incubación Ac primario
CD133	HIER en EDTA, pH 9	1/50	30 min a RT
CD166	HIER en Citrato, pH 6	1/200	30 min a RT

Para el anticuerpo CD133 se observó marcaje de membrana en las células de la base de las criptas de la mucosa normal, así como en el tejido nervioso del plexo mesentérico colónico. El CD166 se expresaba tanto en epitelio como en linfocitos del centro y del área interfolicular de la amígdala, pero resultó mucho más específico cuando se testó en mucosa normal de colon, donde solo se expresaba en la membrana de algunas de las células en la base de las criptas y células endoteliales

## Conclusión:

Ambos marcadores se han estandarizado para su detección inmunohistoquímica sobre secciones de tejido fijado e incluido en parafina. Su expresión en áreas específicas, donde previamente se ha descrito la ubicación de las células madre adultas normales, permite que sean utilizados en estudios de identificación de las células madre tumorales en diferentes series de tejidos tumorales. Además, la particularidad de ser marcadores de membrana, hace posible trasladar los resultados obtenidos en series tumorales a ensayos en citometría y la separación de poblaciones que expresen dichos marcadores.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 373

## (UTILIDAD DE LA P16INK4a+Ki67 EN EL DIAGNOSTICO DIFERENCIAL DE HSIL Y LSIL)

Trabajo de: Anatomía Patológica.

Autor/a/s: (ANA LUISA ALONSO MONJE, MAXIMINA PÉREZ GONZÁLEZ, ROSARIO TURIÉL VICENTE, GONZALO LAGE VÁZQUEZ, ENGRACIA SANTÍN PIEDRAFITA, LOURDES RODRIGUEZ CASADO, Mª LUZ BALTASAR MOREIRA, PAZ CASTRO VAL, JOSÉ MARÍA GONZÁLEZ HERBÓN, JOSÉ SANTOS SALAS VALIÉN)

Centro de trabajo: (COMPLEJO ASISTENCIAL UNIVERSITARIO DE LEÓN

Correo electrónico del primer firmante: (anamonje30@hotmail.com)

## Introducción:

El carcinoma de cuello uterino es el segundo cáncer más frecuente en mujeres en todo el mundo. Las displasias para citologías según el Sistema Bethesda se clasifican en ASCUS (Células escamosas atípicas de significado indeterminado), LSIL (Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado) y HSIL (lesión escamosa intraepitelial de alto grado). Debido a la subjetividad de los criterios morfológicos de las tipificaciones en las displasias, es necesario el aporte de nuevas técnicas, como la determinación cualitativa y simultánea de los antígenos P16INK4a y Ki67, cuya expresión conjunta es un indicador de desregulación del ciclo celular. La sobreexpresión de estas proteínas es indicativo de neoplasia.

## Objetivo:

Valorar la utilidad de la p16INK4a +Ki67 en el diagnóstico diferencial de HSIL y LSIL.

## MATERIAL:

Desde octubre del 2010 cuando se introdujo esta técnica en nuestro servicio hasta febrero del 2011, se han analizado 11 casos.

## MÉTODOS:

Screening citológico y estudio inmunocitoquímico con doble marcaje del anticuerpo monoclonal de ratón p16INK4a y del anticuerpo monoclonal de conejo Ki67 con dos reactivos de visualización (HRP y AP) y dos cromógenos (DAB y Fast Red).

## RESULTADOS:

Diagnóstico citológico	P16+Ki67	ESTUDIOS ANTERIORES	Diagnóstico de biopsia
ASCUS (HPV +11)	-	Citologías negativas e inflamatorias	
HSIL	+	Citologías inflamatoria	CIN III
Toma única vaginal Negativa para malignidad	-	Citologías vaginales atroficas	Negativa para malignidad. Metaplasia escamosa
ASCUS (HPV +51+38)	+	Citologías negativas e inflamatorias	
HSIL	+	1ª Citología	CIN III
HSIL	+	1ª Citología	CIN I
HSIL	+	1ª Citología	
HSIL	+	Citología LSIL	
Negativa para lesión intraepitelial	-	Citologías negativas tras conización	Negativa para malignidad
Citología. Cervicovaginal atrofica.	+	Citología HSIL, Conización y reconización	CIN I
HSIL	+	Citología HSIL	CIN III

## CONCLUSIONES:

El análisis inmunocitoquímico de P16INK4a+Ki67 ayuda al diagnóstico diferencial entre lesiones de alto y bajo grado. Su determinación es importante, ya que en las lesiones de alto grado esta indicada la conización y en las de bajo grado el seguimiento citológico. Es también de utilidad en el manejo del ASCUS, obteniéndose una buena correlación con el diagnóstico del HPV de alto riesgo oncológico.

**IDENTIFICACION DE LOS MARCADORES DE CELULAS MADRE CD44v6 Y MSI1 EN TEJIDOS NORMALES Y TUMORALES, MEDIANTE INMUNOHISTOQUÍMICA.**

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* AYALA MOSCOSO, BENILDE; AROCA SIENDONES, MARIA INES; BARBERÁN ACEITUNO CRISTINA; GOMEZ RAMIREZ, RAQUEL, NAVARRO LINARES, HECTOR; DE LA CUEVA BATANERO, PALOMA, SAEZ CASTILLO, ANA ISABEL; SANCHEZ-LOPEZ ANA MARIA.

*Centro de trabajo:* BIOBANCO PARA INVESTIGACION. HOSPITAL UNIVERSITARIO SAN CECILIO

*Provincia:* CÓRDOBA

*Correo electrónico del primer firmante:* benilde.ayala.exts@juntadeandalucia.es

**Introducción y Objetivos:**

La identificación de células madre adultas normales y tumorales ha sido difícil. Solo recientemente se dispone de métodos que permiten su identificación y aislamiento. En este momento, uno de los métodos más importantes es la identificación de marcadores mediante inmunohistoquímica. El estudio de estos marcadores, en concreto, los de superficie, facilitarán los experimentos que implican la separación del tumor en subpoblaciones y el testado de su potencial tumorigénico.

El CD44v6, y el MSI1 (Musashi 1) son marcadores descritos en varios tipos de tumores y algunos tipos de células madre adultas, que últimamente parecen relacionarse también con la presencia de células madre tumorales en éstos. El objetivo fundamental es optimizar la detección de la expresión de éstos, mediante inmunohistoquímica, sobre tejido fijado e incluido en parafina en una batería de tejidos seleccionados como control.

Debido al creciente interés por el estudio de estos marcadores, la RBTA, incluye en sus servicios la puesta punto de éstos, para ofrecer a los investigadores tanto las muestras necesarias para el desarrollo de la investigación como una batería de métodos desarrollados bajo unos procedimientos estandarizados de trabajo, que aseguren al investigador la calidad de los mismos.

**Material y métodos:**

El procedimiento seguido para la incorporación de nuevos marcadores ha seguido la siguiente estrategia: a) elección de la clona con las mejores referencias en la literatura, b) selección de los controles de expresión, c) identificación del mejor procedimiento de desenmascaramiento antigénico y detección del antígeno, d) determinación de la concentración de Ac primario, e) revisión de los resultados en la serie de tejido utilizada.

En la serie de tejidos seleccionada se incluyeron: secciones completas de bloques de amígdala reactiva, seminoma, colon normal, y piel, así como secciones de tejido, representativas una serie de carcinomas colorrectales; con lo que se podía valorar la expresión en los distintos componente tisulares y celulares y fenómenos (proliferación, quiescencia, necrosis, apoptosis, efectos de mala fijación).

El desenmascaramiento antigénico se realizó mediante el método HIER (Heat-induced epitope retrieval) aplicación de calor y presión, en PT Link de Dako, con las soluciones Target Retrieval Solution, Low (Tampón Citrato, pH 6) y Target Retrieval Solution, High (Tampón EDTA, pH 9). Se testaron además tiempos de incubación y diluciones crecientes de anticuerpo primario, y tiempos de incubación de anticuerpo secundario con cada uno de los tejidos control y anticuerpos seleccionados.

En todos los ensayos se realizó inactivación de peroxidada endógena mediante la aplicación sobre la muestra de una solución de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 3% en metanol durante 10 minutos, y bloqueo de epítomos inespecíficos mediante aplicación de una solución de BSA (bovin serum albumina) y mezcla de sueros animales.

En cada ensayo se incluyeron controles negativos de segunda capa, omitiendo el anticuerpo primario, para descartar falsos positivos.

El sistema de revelado usado fue el EnVision™FLEX, de Dako, que combina anticuerpos secundarios anti-IgG de ratón y conejo, fijados a un polímero, y unido a HRP (Horseradish peroxidase), con visualización de la reacción mediante DAB+ Chromogen

Una vez determinado el protocolo óptimo para cada anticuerpo, se trasladaron al robot Autostainer Link 48, Dako.

Para finalizar se evaluaron los resultados analizando el patrón de expresión de cada marcador en diversos componentes histológicos: cripta colónica, epitelio de superficie y de las criptas de amígdalas, vasos sanguíneos y linfáticos, tejido nervioso (células nerviosas y plexos mesentéricos), infiltrado linfocitario, etc.. También se revisó la expresión en tumores de origen germinal (seminomas) y en adenocarcinomas de colon.

**RESULTADOS:**

La clona seleccionada, la identificación del mejor procedimiento de desenmascaramiento y condiciones más adecuadas de dilución e incubación del anticuerpo primario se resumen en la tabla adjunta.

Anticuerpo	Casa Comercial	Nº Catalogo	Tipo Ac	Clona	Desenmascaramiento antigénico	Dilución	Incubación Ac primario
CD44v6	AbCam	ab30436	Monoclonal Ratón	vif-7	HIER en Citrato, pH 6	1/200	30 min a RT
Msi1	AbCam	ab52865	Monoclonal Conejo	EP1302	HIER en EDTA, pH 9	1/50	30 min a RT

El CD44v6 mostró una expresión de membrana restringida a las células del epitelio proliferante, y células en la base de las glándulas de la mucosa normal, siendo negativo para los endotelios y células estromales.

El Msi1 aparecía expresión citoplasmática y nuclear en las células de seminoma, que sirvió como control positivo de tinción. Los ensayos en epitelio glandular mostraron que las células en la base de las criptas de la mucosa colónica eran intensamente positivas para Msi1

**Conclusión:**

Los marcadores elegidos se han optimizado para la realización de estudios de expresión mediante inmunohistoquímica sobre tejido fijado e incluido en parafina. La localización de la expresión de ambos marcadores se han visto relacionada áreas de regeneración y proliferación, donde se han descrito que deben aparecer las células madre adultas normales. Por lo que ambos marcadores son candidatos para ser estudiados en series completas de muestras tumorales, y determinar su posible especificidad para la identificación de células madre tumorales.

**(UTILIDAD DEL ESTUDIO RUTINARIO DE PIEZAS DE HEMORROIDECTOMÍA EN EL SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA)**

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* (Marín Serrano, María del Carmen)

*Centro de trabajo:* (Hospital Santa María Del Rosell)

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

**Introducción:**

La prevalencia de patología hemorroidal es de entre un 5 y un 36%, y de éstos requieren cirugía entre un 5 y un 10%. En una revisión de la literatura actual, la tendencia va dirigida a no apoyar el estudio histopatológico de rutina de las piezas hemorroidectomía.

**Objetivo:**

Revisar las piezas de hemorroidectomía recibidas en nuestra área de salud en los últimos 11 años y valorar la correlación clínico-patológica tras el estudio histopatológico de las mismas.

**Materiales y métodos:**

Recogimos datos demográficos de pacientes de los que recibimos piezas de hemorroidectomía desde el año 2000 hasta la actualidad. Así mismo revisamos el diagnóstico previo, pieza, diagnóstico patológico efectuado y si precisaron intervención tras el diagnóstico, bien fuera quirúrgica o revisión clínica derivada de diagnóstico patológico.

**RESULTADOS:**

Desde el año 2000 se han recibido en nuestra área 221 piezas de hemorroidectomía, de las cuáles 107 corresponden a mujeres. Los diagnósticos patológicos encontrados fueron: nódulo hemorroidal (90,96%) que fue el más frecuente, papila anal hipertrófica o pólipos fibroepitelial (7,23%), lesión epitelial compatible con infección por virus del papiloma (0,9%), melanoma (0,45%), adenoma serrado sesil con displasia leve (0,45%) y lesión epitelial con displasia de alto grado (0,45%).

Los diagnósticos histopatológicos encontrados no venían descritos previamente en la petición, salvo la papila anal hipertrófica o pólipo fibroepitelial fueron los hallazgos casuales en la pieza.

Un 2,25% de las piezas precisaron valoración y/o intervención posterior, derivada del diagnóstico patológico.

**CONCLUSIÓN:**

- Casi un 2% de la patología encontrada tiene un potencial maligno.

- El estudio macroscópico quirúrgico de la pieza no se correlaciona con el diagnóstico patológico.

**(IMPORTANCIA DE LA CITOLOGÍA URINARIA EN LA DETECCIÓN DEL HPV EN VARONES)**

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* (Marín Serrano, María del Carmen)

*Centro de trabajo:* (Hospital Santa María Del Rosell)

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

## Introducción:

La infección genital por papilomavirus humano (HPV) es una enfermedad de transmisión sexual frecuente. En los hombres, se definen las infecciones genitales por HPV debido a su asociación con el cáncer anogenital y las verrugas genitales, y por el papel de los hombres en la transmisión de HPV a sus parejas sexuales. La mayoría de las infecciones genitales por HPV en hombres son asintomáticas, con predominio del HPV tipo 16.

## Objetivos:

¿Se puede detectar el ADN HPV en citología urinaria? ¿Hay alguna asociación entre la patología previa del paciente y la infección por HPV?

## Materiales y métodos:

La toma de muestras se realiza mediante recogida de orinas al azar, en nuestra consulta de citología. Todas ellas fueron remitidas por el servicio de urología con diversos diagnósticos (tumor vesical, hematuria, síntomas locales urinarios y tumor renal). Dicha población presenta una edad media de 62 años.

Para la detección del HPV se utilizaron métodos de amplificación de la señal como la captura híbrida o PCR. Este método se realizó tanto a la citología urinaria como a la biopsia del mismo paciente (en caso de que la hubiese).

## RESULTADOS:

De las 200 orinas recogidas, el 89,5% tenían un diagnóstico previo de hematuria y tumor vesical. En 23 casos, se detectó ADN HPV positivo (11,5%). El subtipo predominante fue el HPV tipo 16 (26%), seguido del HPV tipo 52 (13%), ambos de alto riesgo.

## CONCLUSIÓN:

Creemos que la citología urinaria puede ser un buen método de screening para la detección del HPV en varones, especialmente en aquellos casos donde la pareja ya está infectada.

No hemos observado ninguna asociación entre la infección por HPV y la neoplasia de origen urotelial.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 385

### (UTILIDAD DE LA PCR PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA TUBERCULOSIS (TBC))

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* (Marín Serrano, María del Carmen)

*Centro de trabajo:* (Hospital Santa María Del Rosell)

*Provincia:* (Murcia)

## Introducción:

La tuberculosis (TBC) es una enfermedad bacteriana en la que se pueden ver afectadas distintas partes del cuerpo como los pulmones, ganglios linfáticos, riñones, huesos, articulaciones entre otras. Los síntomas sugestivos de la infección por TBC pueden plantear problemas de diagnóstico diferencial con otras enfermedades. Las técnicas moleculares como la PCR cuantitativa han supuesto un importante avance en la detección precoz de esta infección.

## Objetivo:

En este estudio tratamos de valorar si existe alguna relación entre la positividad a la infección por TBC con la localización anatómica de la lesión o el servicio hospitalario demandante de esta determinación.

## Materiales y métodos:

Se revisan un total de 169 muestras entre las que se incluyen muestras tomadas o seleccionadas por el servicio de anatomía patológica y muestras con petición directa de otros servicios clínicos (medicina infecciosa principalmente) para el estudio de la presencia de TBC por PCR cuantitativa empleando el kit PALEX y el termociclador a tiempo real 7500F de Applied Biosystems.

## RESULTADOS:

Los pacientes presentaron una edad media de 50 años. De los casos estudiados se observó una relación significativa entre la positividad por TBC y la procedencia de las muestras del Servicio de Anatomía Patológica; relación no observada con las peticiones realizadas por otros servicios (75,5% vs 22,5%;  $p=0,0122$ ), y una mayor positividad para muestras procedentes de ganglio linfático (30,61%) y muestras procedentes de vías respiratorias (30%).

## CONCLUSIÓN:

Se demuestra la importancia de la selección de la muestra por parte del patólogo en base a los hallazgos morfológicos (presencia de granulomas o necrosis) observados, como mejores predictores de la positividad a la TBC que la sospecha clínica de otros servicios.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 391

### FOLICULITIS VIRAL POR VIRUS HERPES SIMPLE TIPO I

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* Estébanez Gallo, Ángel; Pumarejo Gómez, Enriqueta; Díaz García, María del Pilar; Herrera Cisneros, María Dolores; Andreu Villagrán, María Cruz; Valdés Rodríguez, Estibaliz; Palacín Víaña, Yolanda; Lera Gómez, Leticia; Puente de Mateo, Elena; Fernández Muñoz,

María del Carmen; Ruiz Haro, María del Pilar; Carnicero Cáceres, Silvia; Malaxetxebarria Unibaso, Séfora; Gómez Román, José Javier; González Vela, María Carmen

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario "Marqués de Valdecilla"

*Provincia:* Cantabria

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

## Introducción:

La foliculitis herpética por virus del herpes simple I y II es una patología poco frecuente. En ocasiones, presenta datos clínicos sugestivos como las pústulas umbilicadas o las vesículas en racimos. Pero la mayoría de las veces es confundida con otros tipos de foliculitis. Debido a su baja frecuencia, los criterios diagnósticos no están todavía bien establecidos.

## Objetivos:

Estudio mediante inmunohistoquímica y patología molecular de un caso de foliculitis facial que no responde a tratamiento antibiótico y con cultivos negativos. El paciente varón de 80 años no tiene antecedentes médicos de interés.

## Material y método:

IHQ: El estudio inmunohistoquímico se realizó a partir del tejido fijado en formol e incluido en parafina, utilizando el método EnVision+ (DAKO, Glostrup, Denmark) según protocolo del fabricante.

Patología Molecular: Se realiza técnica para la detección de Herpes Simple tipo 1, Herpes Simple tipo 2, Varicela zóster, Citomegalovirus, Virus de Epstein Barr, Herpes tipo 6, Herpes tipo 7, Herpes tipo 8 y Enterovirus por métodos de amplificación genómica e hibridación tipo específica en array de baja densidad en tubo (PCR-AT).

## RESULTADOS:

Histológicamente se observó una intensa foliculitis que afectaba a varios folículos pilosos asociada con áreas de erosión epidérmica, y la presencia de agrandamientos nucleares con marginación cromatina, e inclusiones virales. Se realizó estudio IHQ y se demostró la presencia de Virus herpes simple tipo I. La presencia de Virus herpes simple tipo I también se demostró mediante PCR.

## CONCLUSIONES:

Tanto la IHQ como la PCR son muy útiles para demostrar la presencia de Virus Herpes facilitando el diagnóstico de foliculitis herpética en aquellos casos que no presentan una clínica específica.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 392

### HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS DEBIDOS A INFECCIÓN POR VIRUS H1N1

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* Pumarejo Gómez, Enriqueta; Estébanez Gallo, Ángel; Díaz García, María del Pilar; Lera Gómez, Leticia; Puente de Mateo, Elena; López Cayarga, Soraya; Pérez Rojas, María del Campo; Rodríguez Ruiz, María Ángeles; Carnicero Cáceres, Silvia; Bugada, MA; Mansilla, MR; Sanjuan Bilbao, M.V.; Mayorga Fernández, Marta; Malaxetxebarria Unibaso, Séfora; Arce Mateos, Félix; Gómez Román, Javier; Val Bernal, Fernando.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario "Marqués de Valdecilla"

*Provincia:* Cantabria

*Correo electrónico del primer firmante:* ketypg@ono.com

## Introducción:

Se presenta el caso de un varón de 73 años, con cardiopatía isquémica conocida e infarto de miocardio inferoposterior en 1988, con aneurisma, que fallece tras 46 días ingresado en UCI por una insuficiencia cardíaca complicada con neumonía bilateral comunitaria grave por gripe A, con confirmación analítica.

## Objetivos:

Confirmación de la sospecha de infección por el virus H1N1 mediante estudio histológico y de biología molecular.

## Material y método:

Para el estudio histológico se realizó la técnica habitual de Hematoxilina Eosina. El diagnóstico de infección por el virus H1N1 se realizó mediante PCR de Applied Biosystems®, utilizando los primers de la OMS.

## RESULTADOS:

El estudio macroscópico reveló, como hallazgos más significativos, una condensación pulmonar bilateral, con aumento de peso de ambos pulmones, una laringotraqueobronquitis y adherencias pleurodiafragmáticas, pleuropericárdicas y pleurocostales, con derrame organizado. Microscópicamente, los pulmones presentan Daño Alveolar Difuso en distintos estadios de evolución (agudo, necrotizante y organizado) con focos de bronconeumonía aguda y crónica y reacción gigantomielocelular a cuerpo extraño, entre otros datos. Secundariamente existen signos de infarto miocárdico, de entre 3 y 7 días de evolución en ventrículo izquierdo y tabique, así como otros signos que confirman la cardiopatía isquémica ya conocida.

El resultado de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para el virus de la gripe A, según la secuencia consenso de la OMS, fue positiva.



## CONCLUSIONES:

La gripe A, producida por el virus N1H1, es una enfermedad de reciente aparición con una mortalidad que afecta principalmente a individuos con enfermedades graves (cardiopatías, o estados de inmunodeficiencias (por ejemplo, embarazadas). Pocos han sido los estudios necrópsicos publicados de pacientes con gripe A en el mundo y menos aún en nuestro país, de ahí el interés de publicar los resultados anatomopatológicos de las autopsias realizadas. Se han publicado los protocolos de protección en las autopsias de pacientes fallecidos con (o de) gripe A, que deben ser de conocimiento y utilización para cuantos aborden la prosección.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 395

### UTILIDAD DE LOS MARCADORES VIRALES EN EL DIAGNÓSTICO DE LESIONES RELACIONADAS CON INFECCIÓN VIRAL. IMPORTANCIA DEL CONTROL DE CALIDAD.

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* Elena Gonzalvo Mallón, Montserrat Tortosa, Ingrid López, Ingrid Victoria, Elena Rull, Lucila Fresno, José Ramírez, Pedro Luis Fernández, Miriam Cuatrecasas.

*Centro de trabajo:* Hospital Clínico y Provincial de Barcelona.)

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

#### Introducción:

La Inmunohistoquímica (IHQ) constituye una herramienta fundamental para el diagnóstico en Anatomía Patológica al permitir determinar el inmunofenotipo de tumores y otras entidades patológicas, mediante el estudio de la expresión de anticuerpos en el tejido problema. Una de las utilidades de la IHQ se basa en la detección de virus implicados en lesiones infecciosas, inflamatorias o en tumores humanos (sarcoma de Kaposi, linfoma de cavidades, carcinoma de cervix uterino, etc).

Presentamos la casuística de nuestro laboratorio, los marcadores virales utilizados y las diferentes técnicas de IHQ e hibridación in situ (HIS) utilizadas para su detección. La correcta realización de estas técnicas es fundamental para que sean útiles y complementen el diagnóstico patológico. Para ello es imprescindible una buena calidad técnica, estandarización y reproducibilidad, así como la utilización de controles positivos y negativos para la correcta evaluación del resultado de tinción. Ello evita errores en el diagnóstico por falsos positivos o negativos.

#### Objetivos:

Dar a conocer la utilidad de los marcadores inmunohistoquímicos en el diagnóstico de las enfermedades que se derivan de una infección viral. Presentar las distintas técnicas utilizadas y las diferencias metodológicas específicas de cada marcador viral, así como posibles fuentes de error diagnóstico por reacciones cruzadas o inespecíficas (falsos positivos) o falsos negativos por defecto de tinción.

#### Material y métodos:

Hemos realizado 2.416 determinaciones virales por IHQ y 618 HIS para virus de Epstein Barr (EBER) durante el año 2010. Disponemos de los siguientes anticuerpos para IHQ: Parvovirus B19 (PvB19), Citomegalovirus (CMV), Epstein-Barr EBNA-2, Epstein-Barr LMP-1 (EBV), Epstein-Barr Zebra, Helicobacter pylori, p16 como marcador indirecto de VPH, Virus HBcAg, Virus HBsAg, Virus Herpes 6, Virus Herpes 8 LNA-1, Virus Herpes 1, Virus Herpes 2, Virus Polioma (Sv40).

Los cortes parafinados se desparafinan y desensamblan con el proceso automatizado PTLINK (Dako), utilizando pH alto o pH bajo, según el anticuerpo. La tinción IHQ se realiza en Autostainer Link 48 (Dako), con el Kit EnVision Flex (Dako), o el sistema automatizado Benchmark XT (Ventana) con el Kit ultraView Universal DAB Detection (Ventana). Para HIS de EBER utilizamos el sistema automatizado Benchmark XT (Ventana) con el kit ISH iVIEW Blue Plus Detection (Ventana). Se valora con el microscopio óptico.

#### RESULTADOS:

En el laboratorio de IHQ se han realizado 3.034 determinaciones virales de un total de 40.728 determinaciones (7,45%). Desglosadas por anticuerpos, corresponden a:

p16: 1.110; EBER: 618; CMV: 375; Helicobacter pylori: 189; Virus Herpes 1: 153; Virus Herpes 2: 151; Virus Herpes 8 LNA-1: 120; EBV: 112; Sv40: 48; EBNA-2: 44; ZEBRA: 39; Virus HBsAg: 30; Virus HBcAg: 28; Virus Herpes 6: 11; PvB19: 6;

En todas las determinaciones virales se han utilizado controles positivos y negativos.

Algunos anticuerpos presentan tinciones inespecíficas. Las observadas con más frecuencia son: tinción citoplasmática de CMV en células inflamatorias, tinción de células neuroendocrinas o de sustancia amiloide al realizar HIS-EBER. Estas tinciones pueden ser debidas a reacciones cruzadas con otros epítomos semejantes.

#### CONCLUSIONES:

La IHQ e HIS viral son de gran utilidad y contribuyen al diagnóstico de enfermedades infecciosas y tumores relacionados con infecciones virales. Permiten objetivar la presencia directa o indirecta de infección viral, aumentando la sensibilidad y especificidad diagnóstica respecto a la tinción con hematoxilina-eosina. No obstante, la calidad técnica y reproducibilidad de la misma son fundamentales para su correcta utilización.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 407

### ESTUDIO FARMACOGÉNICO DE LA CAPECITABINA: ANÁLISIS DE SNPS (SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS) A LO LARGO DE TODO EL GENOMA MEDIANTE ARRAYS DE ALTO RENDIMIENTO

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* Herráez Crespo, Belén; D Caronia; M Martín; N Álvarez; TL Moreno; MR Alonso; G Pita; J Sastre; J De la Torre; JA García-Saenz; J Benítez; A González-Neira

*Centro de trabajo:* Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO).

*Correo electrónico del primer firmante:* bherraez@cnio.es

#### Introducción:

Capecitabina (Xeloda) es un profármaco oral de 5-fluoracilo (5-FU) usado en el tratamiento de cáncer de mama y cáncer colorrectal. Uno de los efectos adversos más limitante de este fármaco y que puede llevar a la interrupción del tratamiento es el denominado síndrome mano-pie (HFS), que se caracteriza por enrojecimiento, sensibilidad, y descamación de las palmas y plantas.

#### Objetivo:

El objetivo de este estudio es identificar polimorfismos genéticos asociados a la aparición de este efecto adverso en su grado más severo.

#### Material y métodos:

Para ello se han analizado un total de 610.000 polimorfismos de una base, también denominados SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) en un total de 238 pacientes con cáncer de mama y cáncer colorrectal tratados con este fármaco, utilizando el array Illumina Human 610-quad (Illumina).

El protocolo, denominado Infinium, consta de los siguientes pasos: a) amplificación inicial de la muestra, b) fragmentación del DNA, c) hibridación en el array, d) extensión de una base alelo específica en cada posición a interrogar con nucleótidos marcados, e) análisis de fluorescencia en el scanner Illumina f) conversión de fluorescencia en genotipos mediante software de análisis.

#### RESULTADOS: y CONCLUSIONES:

De las 238 muestras procesadas, 4 muestras fueron descartadas por bajo call rate. Del resto, la tasa de éxito media fue de un 99,72%. De los 616.795 SNPs genotipados para cada muestra, se utilizan unos 520.933 para el análisis estadístico, ya que cumplen los requisitos de tasa de genotipado y MAF (frecuencia del alelo menor)

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 415

### ESTUDIO DE LA FIBROSIS RENAL EN DONANTES SUBÓPTIMOS. VALORACION TECNICA DEL ROJO SIRIO Y ORCEINA PROCESADAS EN HORNO MICROONDAS

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* MARIA DOLORES MARTINEZ RUBIA-MARIA DOLORES RODRIGUEZ MARTINEZ-ANTONIA MONTES FRANCO

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO SAN CECILIO DE GRANADA

*Provincia:* GRANADA

*Correo electrónico del primer firmante:* JCPCMTITI@TELEFONICA.NET

#### RESUMEN:

Un problema que se plantea en la valoración en los trasplantes renales para donantes añosos o con patologías concomitantes (hipertensión arterial, diabetes, etc.) es la cuantificación precisa de la fibrosis intersticial y la hiperplasia miointimal vascular que, cuando son graves, pueden condicionar la supervivencia futura del injerto. Hasta ahora su valoración se realiza mediante la observación visual por el patólogo de las preparaciones teñidas con PAS y tricrómico de Masson, que no son completamente específicas para estas lesiones. Además la ausencia de una cuantificación precisa de las mismas es responsable de notables diferencias inter- e intraobservador a la hora de informar el resultado de la biopsia.

#### Objetivo:

El objetivo de este panel es aportar un método rápido de coloración con rojo sirio y otro de orceína para fibras elásticas en horno microondas con la finalidad de: 1) estandarizar completamente procedimientos que por su duración hasta ahora han sido incompatibles con la biopsia rápida de los órganos de donante y 2) Comparar los **RESULTADOS:** obtenidos con los clásicamente establecidos para las tinciones de PAS y tricrómico hasta ahora empleadas.

#### MATERIALES Y METODOS:

- Muestra problema.
- Coplin capacidad de 50cc
- Orceína, sus reactivos.
- Rojo Sirio, sus reactivos

- Microondas convencional.
- Sistemas de Análisis de Imagen Fibrosis HR® y Visilog 6 (Noesis), que permiten cuantificar en pocas décimas de segundo las áreas teñidas o delimitadas por las estructuras objeto de coloración con rojo Sirio y orceína.

#### METODO:

Las soluciones de las técnicas han sido obtenidas del libro "Laboratorio de anatomía patológica" Autor: Raimundo García del Moral -Editorial: Interamericana. McGraw-HILL- introduciendo las siguientes modificaciones:

- Método de orceína para fibras elásticas:

Con las muestras ya desparafinadas e hidratadas se introducen en coplin con colorante de orceína y

al microondas a máxima potencia durante 30 segundos a intervalos de 10 segundos.

Posteriormente al lavado se ha suprimido el contraste con picrocarmin de índigo, montando convencionalmente.

- Método de rojo sirio para fibras colágenas:

Con las muestras ya desparafinadas e hidratadas y antes de teñir se ha introducido una modificación de mordentaje con alcohol de 70° en el horno microondas a máxima potencia durante 30 segundos a intervalos de 10 segundos lo que ha demostrado que estabiliza la tinción posteriores tiempo de tinción con rojo sirio se hace también en el microondas a máxima potencia durante 30 segundos a intervalos de 10 segundos.

Lavar rápidamente y secar con papel de filtro aclarar y montar.

#### RESULTADOS:

ORCEINA:

-Fibras y membranas elásticas. Pardo-negruzco

ROJO SIRIO:

-Fibras del tejido conectivo(excepto elásticas). Rojo intenso

-Otros elementos. Amarillo.

#### CONCLUSIONES:

LAS PREPARACIONES OBTENIDAS SON ÓPTIMAS TANTO EN TIEMPO COMO EN TINCIÓN PARA SU ANÁLISIS AUTOMÁTICO MEDIANTE SISTEMAS DE IMAGEN Y ASÍ MISMO PERMITEN COMPLEMENTAR EL DIAGNÓSTICO PROPORCIONADO POR LA TINCIONES CONVENCIONALES DE H&E, TRICRÓMICO DE MASSON-GOLDNER Y PAS.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 416

### CITOBLOQUES DE CELULAS PROCEDENTES DE DERRAMES CON GELATINA. VALORACION DEL METODO

Trabajo de: Anatomía Patológica.

Autor/a/s: MERCEDES GONZALEZ MURIANA-MARIA DOLORES MARTINEZ RUBIA-ANTONIA MONTES FRANCO

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO SAN CECILIO-GRANADA

Provincia: GRANADA

Correo electrónico del primer firmante: JCPCMTITI@telefonica.net

#### RESUMEN:

El hecho de poder contar con citobloques, es decir, células conservadas en bloques de parafina de buena calidad, para su estudio tanto morfológico, inmuno histoquímico o de biología molecular facilita el diagnóstico.

Planteamos el estudio de este método con la incorporaron de distintas gelatinas como aglutinador.

#### Objetivo:

El objetivo del citodiagnóstico es interpretar las lesiones presentes sobre células aisladas extraídas por diversos procedimientos clínicos. Conseguir una cantidad adecuada de estas en líquidos procedentes de derrames.

#### MATERIAL Y METODOS:

##### MATERIAL:

- Líquidos procedentes de derrames

- Tinción Papanicolau El objetivo del citodiagnóstico es interpretar las lesiones presentes sobre células aisladas extraídas por diversos procedimientos clínicos.

- Cytospin

- Cito centrífuga.

- Gelatina 1º(marca Cutanplast) (G1) (200x70x0, 5 mm)

- Gelatina 2º(marca Willospon) (G2) (80x50x10mm)

- Procesador histológico

- Micrótopo-Tinciones convencionales para histología

- Sistema de micrófonos Axiovisión AC

- Sistema de Análisis de Imagen Imago Tool.

##### METODOS:

Se procede con el líquido de derrame con el protocolo habitual en el Laboratorio de Citología.

El resto se centrifuga de la siguiente manera:

Se centrifuga dos tubos con el líquido del derrame (aproximadamente 10cc. Cada uno),

retirando el sobrenadante. a un tubo con el sedimento que ha quedado se le incorpora una porción de gelatina G1 (5x5x0,5 mm...)y al otro tubo una porción de gelatina G2 (5x5x2mm) ,dejándolo reposar unos 30 minutos, extrayendo posteriormente la porción de gelatina y pasándola a formol tamponado para su posterior inclusión en el procesador histológico habitual.

Los cortes se tiñen con H-E y se realiza inmunotinción con Calretinina, Citoqueratinas (CK7 y CK20), CD68 y Ki67.

Se realiza análisis de imagen sobre los cortes de la gelatina G1 y G2 para medir la superficie media del poro.

Se evalúa la cantidad del material citológico útil y la disposición del mismo

Se analiza la calidad de la inmunotinción.

#### RESULTADOS:

La media del tamaño del poro que generan las gelatinas es similar.

La cantidad de células es más apreciable.

No se producen artefactos en las posteriores tinciones realizadas.

#### CONCLUSIONES:

EL MÉTODO ES ÚTIL PARA AUMENTAR SIGNIFICATIVAMENTE LA RECUPERACION DE CÉLULAS EN LÍQUIDOS PROCEDENTES DE DERRAMES.PUDIENDO CONFECIONAR CITOBLOQUES PARA SU POSTERIOR ESTUDIO ANATOMOPATOLOGICO SI SE VIERA CONVENIENTE.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 419

### GENOTIPOS DE PAPILOMAVIRUS Y CANCER CERVICAL

Trabajo de: Anatomía Patológica.

Autor/a/s: (1) Rubio Alarcón Joaquín, (2) Mosteiro Lobato Sonia, (1) Moure González Claudia, (1) González Alberte Sonia, (2) García Martín Sonsoles, (1) Martínez Lemos Eva, (1) Barbeito Fernández Victoria.

Centro de trabajo: Complejo Hospitalario Universitario de Vigo, (1) Servicio de Microbiología, (2) Servicio de Anatomía Patológica. Vigo

Provincia: Pontevedra)

Correo electrónico del primer firmante: joronoal@gmail.com

**Introducción:** el papillomavirus (VPH) es el virus responsable del cáncer de cuello uterino, un importante problema sanitario en todo el mundo, siendo el segundo en incidencia, tras el cáncer de mama. En España se diagnostican cada año aproximadamente 2.100 nuevos casos, un 28% de ellos en mujeres de 15 a 44 años de edad. En nuestro país la incidencia del carcinoma de cuello de útero registra un incremento anual del 1% y la mortalidad está aumentando, especialmente en mujeres de 25-49 años. Existen genotipos de bajo y alto riesgo, según su asociación con el cáncer de cuello uterino. Los tipos más comunmente encontrados en esta patología en todos los continentes son VPH 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52 y 58. VPH 16, 18 y 45 suponen el 75% del carcinoma escamoso y el 94% del adenocarcinoma.

**Objetivos:** conocer los genotipos de VPH responsables de todos los casos de cáncer cervical detectados durante los años 2009 y 2010 en las consultas del Hospital do Meixoeiro (Complejo Hospitalario Universitario de Vigo, Servicio Galego de Saúde).

**Material y métodos:** se estudiaron 24 casos de cáncer cervical: 16 CIS (carcinoma escamoso in situ), 6 CES (carcinoma escamoso), 2 AIS (adenocarcinoma in situ). Se estudiaron 18 muestras de biopsia y 6 muestras de exudado endocervical correspondientes a la fecha de diagnóstico de carcinoma. Las muestras de biopsias fueron desparafinadas siguiendo método convencional. Todas las muestras fueron extraídas por extracción total de ácidos nucleicos (TNAI-Ampliprep-Roche Diagnostics). Para el genotipado se amplificó el ADN (ácido desoxirribonucleico) mediante PCR (reacción en cadena de la polimerasa) y posterior hibridación utilizando Linear Array Genotyping kit (Roche Diagnostics), una técnica que permite la detección de todos los genotipos descritos de alto riesgo oncogénico (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53 (probable alto riesgo), 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82), y diversos genotipos de bajo riesgo oncogénico (6, 11 entre otros) y de riesgo indeterminado.

**RESULTADOS:** La distribución de genotipos de alto riesgo encontrados fue: VPH 16 (11/24, 45.8%), VPH 31 (4/24, 16.6%), VPH 33 (4/24, 16.6%), VPH 58 (3/24, 12.5%), VPH 18 (2/24, 8.3%), VPH 35 (2/24, 8.3%), VPH 45, 51, 53, 56, 82 (1 de cada). En 5 casos se encontró coinfección por 2 ó más genotipos de alto riesgo. En 11/24 pacientes (45.8%) se encontraron exclusivamente genotipos de alto riesgo diferentes al VPH 16 ó 18, descritos como los más frecuentes en carcinoma cervical. La media de edad de las mujeres en el momento del diagnóstico fue de 46.7 años (26.6-82.4). Las mujeres diagnosticadas de CES presentaron una media de 71.7 años (62.5-82.4). Entre las mujeres que presentaban CIS o AIS, las infectadas por VPH 16, 18 o 45 tenían una media de 35.4 años (26.6-51.1) mientras que las infectadas por otros genotipos de alto riesgo tenían una media de 42.9 años (30.5-73.6).

#### CONCLUSIONES:

(1) VPH 16 fue el genotipo más frecuentemente encontrado en cáncer cervical, seguido de otros genotipos como VPH 31 y 33. (2) En casi la mitad de los casos se encontraron exclusivamente genotipos de alto riesgo diferentes al VPH 16 o al VPH 18.

(3) El diagnóstico de CES se realizó en mujeres de edad muy superior a la del resto de carcinomas estudiados.

(4) Los genotipos de alto riesgo incluidos en la vacunación (VPH 16 y VPH 18) se encontraron el 46% de los carcinomas estudiados, llegando al 71% si también se consideran otros genotipos de probable protección cruzada (VPH 31 y VPH 45).

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 429

### MUTACIONES DEL GEN K-RAS

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* MANUELA SANCHEZ FERNANDEZ, M<sup>a</sup> JOSE SOUTO SILVA, JOSEFAPRADA VALLE

*Centro de trabajo:* HOSPITAL EL BIERZO

*Provincia:* LEON

*Correo electrónico del primer firmante:* manusanfer.66vz@yahoo.es

#### INTRODUCCIÓN:

Prueba de diagnóstico in Vitro diseñada para la detección de las siete mutaciones somáticas en el oncogen K-RAS.

#### Objetivo:

Proporcionar una validación cualitativa del estado de las mutaciones.

#### Material y métodos:

El material debe ser un ADN genómico humano obtenido de muestras de cáncer colorectal, extraídas de tejido incluido en parafina.

Una vez evaluada la presencia de células cancerosas por el patólogo se procede a la extracción de ADN mediante el kit manual ( kit para ADN en tejido FEPE de Quiagen QIAamp).

Una vez obtenido y cualificado el ADN genómico, se procede a preparar la placa para la técnica utilizando el kit (TheranScreen: K-RAS Mutación Kit ).

#### RESULTADOS:

Los resultados se expresan como K-RAS mutado( especificando la mutación) y K-RAS negativo.

#### CONCLUSIONES:

La técnica de K-RAS no tiene como objetivo servir de prueba diagnóstica del cáncer colorrectal, sino como complemento de otros factores pronósticos utilizados para la selección de pacientes que puedan ser tratados mediante terapias por inhibición del EGFR según el estado de la mutación en el paciente.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 437

### DISTRIBUCIÓN TOPOGRÁFICA Y CARACTERIZACIÓN DE CELULAS EPITELIALES Y LINFOCITOS INTRAEPITELIALES EN LA MUCOSA OCULAR HUMANA

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* Martino Sanz Mario, Reinoso Roberto, Martín Sanz Raquel, Calonge Margarita, Mateo María Eugenia, Blanco Salado Rodrigo y Corell Alfredo.

*Centro de trabajo:* Instituto de Oftalmobiología Aplicada

*Provincia:* Valladolid

*Correo electrónico del primer firmante:* mmartinos@ioba.med.uva.es

**Introducción:** La conjuntiva es una membrana mucosa que reviste el globo ocular desde la cara posterior del párpado hasta el limbo esclerocorneal. Esta estructura juega un papel fundamental en la protección de la superficie ocular ya que se comporta como una barrera mecánica e inmunológica frente a todo tipo de agresiones. Aunque en los últimos años se ha demostrado la presencia de células inmunes, principalmente linfocitos T y B, en la conjuntiva humana sana, falta todavía mucha información acerca de la distribución topográfica de estas células a lo largo del epitelio conjuntival. El objetivo de este estudio fue por tanto investigar la proporción de linfocitos intraepiteliales y el grado de viabilidad y proliferación celular en tres diferentes regiones de la conjuntiva humana.

**Materiales y métodos:** Las células conjuntivales de la región tarsal superior, bulbar superior y fondo de saco inferior de 63 donantes sanos fueron recogidas por una técnica mínimamente invasiva, la citología por cepillado. Posteriormente, estas células fueron analizadas fenotípica y funcionalmente mediante citometría de flujo.

**RESULTADOS:** Los análisis realizados mostraron niveles más altos de linfocitos intraepiteliales, linfocitos T CD3+ y linfocitos T CD8+ en las zonas superiores que en el fondo de saco inferior, donde curiosamente se registraron los niveles más altos de linfocitos B CD19+. En el ensayo de apoptosis, observamos dos poblaciones celulares totalmente diferenciadas por el tamaño y la complejidad celular. Las células más complejas predominaron en las regiones superiores de la conjuntiva, contrariamente a lo sucedido con las células menos complejas, las cuales a su vez presentaron una mayor viabilidad. La capacidad proliferativa del epitelio conjuntival fue significativamente más alta en la región tarsal superior y fondo de saco inferior que en la conjuntiva bulbar superior.

**Conclusión:** Estos resultados demuestran que cada zona topográfica de la conjuntiva humana normal presenta un perfil distinto en cuanto a su fenotipo y viabilidad /proliferación celular, lo que nos podría llevar a pensar que cada región conjuntival estaría desempeñando una función específica diferente.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 440

### ESTANDARIZACIÓN DE LA DETECCIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE SOX2, UN MARCADOR DE CÉLULAS MADRE

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* Héctor Navarro Linares , Raquel Gómez Ramírez , Cristina Barberán Aceituno, Ovidiu Preda, Alina Nicolae, Ana M<sup>a</sup> Sánchez López, Ana Isabel Sáez Castillo

*Centro de trabajo:* Red de Bancos de Tumores de Andalucía, Nodo de Coordinación Servicio:

*Provincia:* Granada

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

#### RESUMEN:

El objetivo de la Red de Bancos de Tumores de Andalucía (RBTA) es proveer de muestras de tumores a los investigadores. La clasificación de los tumores, su caracterización, depende de criterios morfológicos y moleculares, en continua revisión. Además, la creciente disponibilidad de fármacos dirigidos específicamente a alteraciones moleculares ventajosas para el desarrollo de los tumores, obliga a ceder las muestras tumorales adecuadamente caracterizadas. Esta realidad, compromete a los laboratorios con una continua actualización de su cartera de servicios, esto es, con la versatilidad de poder incorporar continuamente nuevas determinaciones moleculares. La RBTA está organizada como un servicio público comprometido con el fomento de la investigación del cáncer, con estrictos criterios de calidad. La incorporación de la detección de un nuevo marcador molecular, se hace bajo procedimientos normalizados de trabajo, que aseguren la calidad de la información ofrecida a los investigadores.

Una de las líneas de investigación con claro impacto en la tipificación de los tumores, es la caracterización de las células madre de las que proviene el tumor. Numerosos hallazgos identifican estas células con la progresión del tumor y la resistencia a los tratamientos.

Es por ello, que los laboratorios de la RBTA están incorporando técnicas de detección de marcadores de células madre.

La proteína SOX2 es un factor de transcripción cuya función es esencial en el mantenimiento de la auto-renovación de las células madre embrionarias no diferenciadas. Es clave en la inducción de la pluripotencialidad de las células madre. Esta proteína podría actuar como un activador transcripcional tras la formación de un complejo proteico con otras proteínas. Se ha determinado que la desregulación de SOX2 podría estar relacionada con la agresividad de algunos tumores, como el cáncer colorrectal.

En esta comunicación describimos la estandarización de la determinación inmunohistoquímica de SOX-2 y el estudio de su expresión en tumores germinales testiculares, en el contexto de una solicitud de un investigador de provisión de muestras de este tipo de neoplasias, con la restricción de que fuesen tumores con alteraciones de SOX-2.

#### Material y métodos:

Estandarización de la determinación inmunohistoquímica de SOX2 en tejidos fijados y embebidos en parafina.

Para la incorporación de nuevos marcadores, nuestros procedimientos nos obligan a seguir la siguiente estrategia: a) elección de la clona con las mejores referencias en la literatura, b) selección de los controles de expresión, c) identificación del mejor procedimiento de desenmascaramiento antigénico y detección del antígeno, d) determinación de la concentración de Ac primario, e) revisión de los resultados en una serie de tumores y controles.

La clona seleccionada fue la 57CT23.3.4. El anticuerpo se adquirió de la empresa AbCam, Cambridge, UK.

Como SOX2 es un marcador de las células madre neuronales, se utilizó como control positivo el epitelio neural periventricular de 4 embriones humanos. A modo de control negativo, las secciones se incubaron sin el anticuerpo primario.

Se seleccionó el sistema Dako Pt Link, basado en la recuperación de epítomos por calor, usando citrato a pH 6 y tampón Tris/EDTA a pH9. Y como sistema de detección, se usó Dako EnVision™FLEX, con visualización de la reacción mediante DAB+ Chromogen

Se probaron concentraciones decrecientes del anticuerpo, diluido en EnVision™FLEX Antibody Diluent, y varias condiciones de incubación: 1 hora, 2 horas y toda la noche a 4 °C. Se optó por incubación toda la noche a 1/50.

Se prepararon secciones de 93 tumores testiculares con una histología pura y mixta, y se analizó la expresión del anticuerpo. Solo el marcaje nuclear se consideró una reacción positiva. Se evaluaron los resultados, para ver si se acogían a la evidencia científica existente.

#### RESULTADOS:

La expresión de SOX2 estaba prácticamente restringida a los elementos neuroepiteliales inmaduros de los teratomas y de los carcinomas embrionarios. La neoplasia germinal

intratubular (NGIT), seminomas clásicos y espermatoocitos, tumores vitelinos, coriocarcinomas y otros elementos teratoides fueron constantemente negativos. Los resultados están representados en la tabla.

	Número de casos positivos del total
Tejidos embrionarios	4 /4
NGIT	0/73
Seminomas clásicos	0/52
Carcinoma embrionarios	41/41
Tumores vitelinos	0/21
Choriocarcinoma	0/4
Teratomas	3 /20
Seminomas espermatoocitos	0/2

- neuroepitelio

**Conclusión:** La técnica de detección de SOX2 estandarizada es útil para el fenotipado de tumores, y específicamente para tumores germinales. La detección permite valorar si SOX2 puede ser un marcador rentable en la estadificación de los teratomas inmaduros ováricos donde el porcentaje de los componentes inmaduros, esencialmente neuroepiteliales, tienen un gran valor pronóstico y terapéutico.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

**Número: 442**

### DETERMINACIÓN DvbvE LIPÓFAGOS EN ESPUTOS INDUCIDOS

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* ZAPICO ORTIZ, NURIA. MAGAZ RODRIGUEZ, SUSANA. DR. JAVIER RODRIGUEZ PANDIELLA

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO CENTRAL DE ASTURIAS (INS-HUCA)

*Correo electrónico del primer firmante:* nzapico77@gmail.com

#### Introducción:

La presencia de inclusiones lipídicas en macrófagos de pacientes sin patología linfática obstructiva, puede evidenciar la bronco-aspiración de contenido gastroesofágico en vías respiratorias y el diagnóstico diferencial de la tos crónica, cuya persistencia en el tiempo puede dar lugar a diversas patologías pulmonares, como pueden ser las bronquiectasias. La muestra de esputo inducido, que llega al laboratorio en un tubo de Eppendorf, ha sido previamente tratada con DTT (Sputolysin®), PBS y filtrada a través de una gasa de nylon de 48 µm.

#### Objetivo:

Mostrar la presencia de Lipóforos, en pacientes con tos crónica.

#### MATERIAL Y MÉTODO:

Para la determinación de lipóforos, se estudiaron 85 esputos inducidos, de pacientes con tos crónica.

El método empleado para evidenciar las inclusiones lipídicas, es la técnica de OIL RED-O.

#### Tinción de OIL RED-O

- Citocentrifugado de la muestra, a 1100 r.p.m. durante 5 min.
- Fijación en formaldehído al 10%, durante 24 horas.
- Lavar en agua destilada.
- Tratar con 1,2- Propanodiol, durante 5 min.
- Teñir con solución de trabajo de Aceite rojo O , durante 1 hora.
- 1,2- Propanodiol, durante 3 min.
- Lavar en agua destilada
- Contraste con Hematoxilina de Harris, 1 min.
- Lavar en agua corriente
- Montar con Aquatex®

Mediante este método, las inclusiones lipídicas se tiñen de color rojo brillante.

#### RESULTADOS:

Del estudio realizado, 11 casos fueron insuficientes, 57 casos evidenciaron la presencia de Lipóforos, y 17 casos fueron negativos.

#### CONCLUSIONES:

Los resultados obtenidos demuestran que un 67% de pacientes con tos crónica, padecen bronco-aspiración de contenido gastroesofágico en vías respiratorias.

Resumen Comunicación Científica -PANEL

**Número: 444**

### ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO DE DETECCIÓN DE MUTACIONES EN K-RAS MEDIANTE COLD\_PCR

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* Olga Luna Lozano, Judit Vela Escobedo, Mirian Cuatrecasas Freixas, Pedro Jares Gerboles.

*Centro de trabajo:* Hospital CINIC Barcelona

*Provincia:* Barcelona

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

#### Introducción:

La reacción en cadena de la ADN polimerasa (PCR) se ha convertido en el paso inicial de amplificación de ADN más extendido en las determinaciones de marcadores genéticos. Un factor limitante durante el análisis de muestras de tumores sólidos es la heterogeneidad celular que dificulta la detección de alelos mutados presentes en minoría respecto a secuencias normales. La PCR convencional es incapaz de amplificar de forma preferente las moléculas de ADN mutadas, de tal forma que la sensibilidad de los ensayos que utilizan la PCR como paso previo de amplificación viene determinada por la metodología final utilizada para la detección de las mutaciones. La metodología tradicional de secuenciación basada en Sanger tiene un límite de sensibilidad alrededor de un 20-25% de moléculas mutadas. Recientemente se ha descrito la amplificación mediante PCR a bajas temperaturas de desnaturalización (COLD-PCR). Este nuevo formato de PCR permite amplificar preferentemente los alelos mutados presentes en muestras biológicas en las que las células tumorales se encuentren poco representadas.

#### Objetivos:

Nos hemos planteado aumentar nuestra sensibilidad en la detección de mutaciones en los codones 12 y 13 del oncogene K-RAS a partir de ADN extraído de muestras fijadas en formol e incluidas en parafina mediante la estandarización del protocolo de COLD-PCR seguido de secuenciación tradicional (Sanger).

#### Material y métodos:

Se ha extraído DNA de tres líneas de colon portadoras de mutación de K-RAS: SW620 (G12V); CAL62 (G12R), y NP9 (G12D). También se ha extraído DNA de 39 muestras fijadas en formol e incluidas en parafina. La amplificación de K\_RAS mediante PCR convencional se realizó en las líneas celulares y en 4 muestras de tejido. COLD-PCR y el kit comercial TheraScreen de Roche se utilizó en el estudio de 39 tumores de colon. Las secuencias se han realizado con el kit BigDye v3.1 de Applied Biosystems. Las secuencias se analizaron con la aplicación Chromas Lite.

#### RESULTADOS:

El ADN procedente de líneas celulares portadoras de mutación de K-RAS fue mezclado con DNA normal para generar diluciones del alelo mutado (100%, 50%, 25%, 10%, 5% y 1%). La PCR convencional solo detectó las tres mutaciones de forma robusta y reproducible cuando el alelo mutado estaba presente entre el 50% y el 100%. Sin embargo la COLD-PCR fue capaz de detectar de forma sólida el alelo mutado incluso cuando estaba presente solamente en un 5%. Una vez establecidas las condiciones de COLD-PCR y analizada su sensibilidad en ADN procedente de líneas celulares nos centramos en su aplicación para el estudio de ADN proveniente de muestras fijadas en formol e incluidas en parafina. El análisis mediante el kit comercial TheraScreen de Roche y la COLD-PCR fue concordante en el 90% de los casos analizados. En 12 tumores (31%) no se detectó la mutación de K-RAS. La mutación de K-RAS se detectó en 23 muestras. En todos los casos menos en dos la mutación detectada en los dos protocolos fue idéntica. En cuatro casos se observó una discrepancia entre los dos ensayos. Es interesante señalar que en los cuatro casos no se pudo apreciar mutación mediante el kit TheraScreen de Roche pero si se detectó mutación de K-RAS mediante la COLD-PCR. Además, sometimos nuestro protocolo al control de calidad coordinado por la Sociedad Española de Anatomía Patológica para el estudio de K-RAS. La PCR convencional detectó mutación de forma clara en dos de las 4 muestras que formaban parte de este control de calidad. Mientras que nuestro protocolo de COLD-PCR y el kit TheraScreen detectaron de forma fiable mutación en tres de las cuatro muestras estudiadas.

#### Conclusión:

La COLD-PCR es un protocolo económico, sensible y fácil de implementar que permite aumentar de forma muy significativa la sensibilidad de la detección de mutaciones de K-RAS en muestras fijadas en formol e incluidas en parafina.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

**Número: 451**

### PRESENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE LOS GENOTIPOS DE VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (HPV) EN CARCINOMAS IN SITU E INFILTRANTES DE CERVIX UTERINO EN ZAMORA.

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

*Autor/a/s:* Olga Rodríguez Santiago, Felipa Cecilio Ramos, Rubén López Aguado, Clementina Ballesteros López, Agustina Romero Gallego, Mª Luisa Prieto Puente.

*Centro de trabajo:* Servicio de Anatomía Patológica Complejo Asistencial de Zamora

*Provincia:* ZAMORA

*Correo electrónico del primer firmante:* kasasola12@yahoo.es

#### Introducción:

El cáncer cervical es la segunda neoplasia más frecuente en la población femenina a nivel mundial y en la mayoría de los países en desarrollo es la principal causa de muerte en mujeres de mediana edad. La asociación entre el Ácido Desoxirribonucleico de Virus del

Papiloma Humano y el cáncer cervical está avalada por un gran número de investigadores, los cuales han demostrado que se detecta Ácido Desoxirribonucleico de Virus del Papiloma Humano en la mayoría de los casos, lo que implica que un cáncer cervical sólo se desarrollará en presencia de Ácido Desoxirribonucleico de Virus del Papiloma Humano.

#### **Objetivos:**

-Conocer la frecuencia de detección de Ácido Desoxirribonucleico de Virus del Papiloma Humano y la distribución de los genotipos, en Zamora, en una muestra seleccionada (desde Enero de 2010 hasta diciembre de 2010) de casos con carcinoma cervical in situ e invasivo.

#### **Material y métodos:**

Se trata de un estudio retrospectivo de casos consecutivos de carcinoma cervical in situ e infiltrante diagnosticados en biopsia y pieza quirúrgica, en el Hospital Virgen de la Concha de Zamora, en los últimos dos años.

- Para detección de ADN de HPV se emplea Virus del Papiloma Humano Probe (subtipos; 16, 18, 31, 33, 51) y Virus del Papiloma Humano Probe (subtipos; 6 y 11) subtipos de los más frecuentes de alto y bajo riesgo respectivamente. Se realizan en tejidos fijados en formol tamponado e incluidos en parafina mediante Hibridación In Situ usando el sistema automatizado Bond.

- El tipaje se lleva a cabo mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa.

#### **RESULTADOS y CONCLUSIONES:**

En la muestra seleccionada el resultado para Virus emplea Virus del Papiloma Humano Probe (subtipos; 16, 18, 31, 33, 51) es de 9 de los 10 casos seleccionados.

La distribución de los genotipos son: Genotipo 16 en todos los casos excepto en un caso que ha salido 31 y en otro que no fue detectado el Ácido Desoxirribonucleico de Virus del Papiloma Humano.

Estos resultados evidencian que el genotipo 16 es de los más frecuentes y es denominado de los de alto riesgo. Además de indicar la alta sensibilidad de la Virus del Papiloma Humano Probe.

Resumen Comunicación Científica -PANEL

**Número: 452**

### **CONFIRMAR LA SOBREEXPRESIÓN DE P16 Y EL ÍNDICE KI67 EN CARCINOMAS IN SITU E INFILTRANTES DE CERVIX UTERINO EN ZAMORA.**

*Trabajo de:* Anatomía Patológica.

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

*Centro de trabajo:* Servicio de Anatomía Patológica Complejo Asistencial de Zamora

*Provincia:* Zamora

*Correo electrónico del primer firmante:* cballesteros@saludcastillayleon.com

#### **Introducción:**

El cáncer cervical es la segunda neoplasia más frecuente en la población femenina a nivel mundial y en la mayoría de los países en desarrollo es la principal causa de muerte en mujeres de mediana edad. En los cánceres cervicales escamosos, la sobreexpresión de p16INK4a es inducida por Virus Papiloma Humano y está asociada con la carcinogénesis del epitelio cervical. Además la sobreexpresión de p16INK4a se considera un marcador de la progresión de la infección por VPH a cáncer cervical. El antígeno de la ki67 es considerado un marcador de proliferación de células neoplásicas existiendo una elevada correlación entre el índice ki67 y su grado histológico de malignidad.

#### **Objetivos:**

- Estudiar mediante Inmunohistoquímica la sobreexpresión de p16 y el índice ki67 en las muestras biológicas de tejido cervical con carcinoma in situ e infiltrante.

#### **Material y métodos:**

Se estudia una muestra que comprende los casos de carcinoma cervical in situ e infiltrante diagnosticados en biopsia y pieza quirúrgica, en el Hospital Virgen de la Concha de Zamora, en los últimos dos años.

- Para la detección de la proteína humana p16 y ki67 se emplean los clones E6H4 y MM1 respectivamente, los cuales son ensayos Inmunohistoquímicos para determinar cuantitativamente el antígeno p16, (considerando el resultado positivo un patrón de tinción difusa, es decir, tinciones continuas de las células en capas basales, parabasales y superficiales) y el antígeno ki67 que se valora como bajo, moderado y alto índice según el porcentaje de células teñidas.

Para ambos se realizan en tejidos fijados en formol tamponado e incluido en parafina. Cortes a 3 micras, desparafinado y procesado en el sistema automatizado Bond.

#### **RESULTADOS y CONCLUSIONES:**

Los resultados de un muestreo de 20 casos para P-16: 18 casos positivos y 2 casos negativos.

Para Ki67: 18 casos positivos y 2 casos negativos.

El alto porcentaje de positividad confirma que son marcadores indicados para estas neoplasias y la sobreexpresión para P-16 coincide con el alto Índice de Proliferación Ki67.



## AUMENTO DE LOS NIVELES DE LA PROTEÍNA S100 COMO PREDICTOR DE PROGRESIÓN DE ENFERMEDADES EN MELANOMA MALIGNO

*Trabajo de:* Bioquímica

*Autor/a/s:* GARCIA PERELA, INMACULADA

*Centro de trabajo:* H. U. LA PRINCESA. MADRID. Analisis Clinicos

*Correo electrónico del primer firmante:* igperela@wanadoo.es

### RESUMEN:

AUMENTO DE LOS NIVELES DE LA PROTEÍNA S100 COMO PREDICTOR DE PROGRESIÓN DE ENFERMEDADES EN MELANOMA MALIGNO

### Introducción:

El melanoma es un tumor maligno derivado de los melanocitos epidérmicos que se localiza predominantemente en la piel. Continúa siendo la primera causa de muerte por tumores de piel en los países desarrollados. Los factores pronósticos del melanoma maligno han sido estudiados en los últimos años y han permitido identificar distintos subgrupos de pacientes con melanoma en relación al riesgo de metastatizar ya su pronóstico de vida.

Estudios moleculares y de histopatología han encontrado marcadores que identifican a pacientes en riesgo de desarrollar un melanoma en estadio avanzado. Uno de los factores moleculares más estudiados es la proteína S100; esta proteína puede ser una herramienta útil para el diagnóstico histopatológico del melanoma avanzado. La proteína S100 es una proteína dimerica de pequeño tamaño que pertenece a las proteínas fijadoras del calcio. Las dos formas dimericas del marcador S100A y S100B son sintetizadas principalmente por células del sistema nervioso central, especialmente por las células astrogiales así como por células melanómicas.

### Objetivo:

Validar el uso de la Proteína S100 como marcador de mal pronóstico en pacientes con melanoma maligno.

### Material y método:

Se han estudiado los niveles de S100 en un grupo de 89 pacientes (41 mujeres y 48 hombres) con edades comprendidas entre 28 y 85 años diagnosticados de melanoma maligno. Los resultados se han comparado con otros factores de mal pronóstico: espesor tumoral (Breslow) y estadio de la enfermedad (CLARK). El estudio estadístico se realizó con SPSS 15.0; se aplicó el Test de Student, regresión lineal simple con el coeficiente de correlación de Pearson y el test de ANOVA para el análisis de la varianza.

### RESULTADOS:

Tipo histológico: 57 melanoma de extensión superficial (MES), 16 Nodular, 4 melanoma lentiginoso acral (MLA), 4 Lentigo maligno y 8 otros. Localización: 36 tronco, 34 extremidades, 15 cabeza, y 4 zona acral. De los 89 pacientes estudiados 39 tienen un CLARK III y 30 CLARK IV.

Valores medios de S100 obtenidos en relación a CLARK: CLARK 0 (n=2):0.047±.001; CLARK I (n= 19):0.068 ± 0.025; CLARK II (n=17):0.066 ± 0.047; CLARK III (n=11):0.060 ± 0.022; CLARK IV (n=9): 0.161 ± 0.068.

No existe correlación entre S100 y el tamaño del tumor: r= 0.106 y p=0.345. No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre las medias obtenidas de pacientes con rangos normales y patológicos del S100 y el tamaño del tumor: rango normal (S100<0.100 µg/L) n=67: 2.35 ± 1.91 v s rango patológico (S100>0.100 µg/L) n=12: 3.26 ±2.90 (p=0.142). Sin embargo se obtuvo una diferencia de medias de S100 estadísticamente significativa entre el grupo de pacientes con estadio IV (n=9) y el grupo de pacientes con estadio 0, I, II y III: (F=4,835) (p=0.002).

### CONCLUSIONES:

Los resultados obtenidos orientan a pensar que en nuestro grupo de estudio la proteína S100 serviría como marcador de progresión de la enfermedad en melanomas cutáneos en estadio IV, siendo de escaso valor en el seguimiento de pacientes en estadio I-III.

## ESTRATEGIA PARA MINIMIZAR LAS INCIDENCIAS EN LA FASE PRE-ANALÍTICA

*Trabajo de:* Bioquímica

*Autor/a/s:* Maria Tura Farre, Olga Ortega Aixas, Teresa Crespo Puig, Paquita Navajas Rojano, Verónica Camacho Guillén

*Centro de trabajo:* CATLAB(CENTRE ANALITQUES TERRASSA)

*Correo electrónico del primer firmante:* vcamacho@catlab.cat

### Introducción:

Catlab (Centre Analítiques Terrassa) es un laboratorio de análisis clínicos que se fundó en junio del 2008 como una AIE (Asociación de Interés Económico) entre los laboratorios de HUMT (Hospital Universitario Mutua de Terrassa) y CST (Consorcio Sanitario de Terrassa). Catlab da cobertura a 850.000 habitantes del Vallés Occidental (Barcelona) y tiene una carga asistencial de 3200 peticiones/día como promedio.

Teniendo en cuenta que la mayoría de incidencias del laboratorio se producen en la fase pre-analítica, en marzo del 2009 se diseña un programa PIC (Programa Incidencias Catlab) para valorar el estado inicial y disminuir las incidencias pre-analíticas en nuestros centros de extracción.

### Objetivos:

Disminuir el número de incidencias pre-analíticas a lo largo de los años 2009-2010. Conocer el estado inicial de las incidencias pre-analíticas de nuestros centros e implantar medidas de mejora para intentar disminuir el número de las mismas.

### Material y métodos:

Entendemos como incidencia pre-analítica aquella que se produce previa al análisis de la muestra afectando a una o a varias magnitudes solicitadas no permitiendo la entrega de resultados.

Se define el indicador como el cociente entre número de incidencias pre-analíticas y el número de peticiones en cada centro expresado porcentualmente.

Se dispone de diferentes soportes informáticos: EYRA (SIL) que nos permite identificar las muestras que tienen alguna incidencia, PSM (preanalytical system manager) software de Roche para confirmar la ausencia o presencia de la muestra en su procesamiento dentro del laboratorio, PIC nos permite hacer un listado diario por centro de extracción de las incidencias pre-analíticas y explotar la información del EYRA. Dicha información se envía vía mail a una persona responsable de cada uno de los centros de extracción. Mensualmente, se remite un listado con el total de incidencias por centro, gráficas mensuales con la información de todos los centros que pertenecen a una misma área, para que puedan hacer inter-comparación y una gráfica de la evolución de las distintas áreas.

Se imparte formación continuada en el propio laboratorio y en los 96 centros de extracción periféricos. Se invita al personal de los centros a visitar las instalaciones del laboratorio (administrativos, auxiliares, técnicos y enfermería) para conocer in situ su funcionamiento. Paralelamente el personal responsable del proceso pre-analítico del laboratorio realiza visitas a los distintos centros para hacer un seguimiento y valoración de las extracciones conjuntamente.

Las extracciones se realizan con el sistema de vacío de BD (Becton Dickinson)

### RESULTADOS:

Durante el año 2009 el indicador pasa de una media inter-centros del 12% al 5% y en el año 2010 todos los centros se han mantenido por debajo del 5%.

### CONCLUSIONES:

La estrategia implantada ha resultado eficaz en la reducción de incidencias.

## GESTIÓN DE LA TEMPERATURA EN EL TRANSPORTE DE MUESTRAS ANALÍTICAS

*Trabajo de:* Bioquímica

*Autor/a/s:* Olga Ortega Aixas, Maria Tura Farre, Paquita Navajas Rojano, Paquita Pariente Jiménez, Esther Moreno Hurtado

*Centro de trabajo:* CATLAB(CENTRE ANALITQUES TERRASSA)

*Dirección del primer firmante:*

*Correo electrónico del primer firmante:* vcamacho@catlab.cat

### Introducción:

Catlab (Centre Analítiques Terrassa) se fundó en junio del 2008 como una AIE (Asociación de interés Económico) entre los laboratorios de HUMT (Hospital Universitario Mutua de Terrassa) y CST (Consorcio Sanitario de Terrassa) da cobertura a 850.000 habitantes del Vallés Occidental (Barcelona) con una demanda de 3200 peticiones/día. El área de Extraanalítica de Catlab está estandarizando los procesos de la fase pre-analítica, con esta finalidad en Septiembre del 2010 se puso en marcha un control de temperatura en el transporte de muestras para su valoración.

### Objetivos:

Disponer de un registro de las temperaturas durante el transporte de las muestras en las distintas rutas establecidas e implantar acciones de mejora en caso de que se incumplan los requisitos establecidos.

### Material y Métodos:

Disponemos de un programa ThermoScan (Transmed Sarsstedt-gruppe) que permite medir la temperatura de transporte. Se hizo un plan de recogida de temperaturas de las distintas rutas en función de los sensores disponibles. Los sensores se programan de manera que inicien el registro media hora antes de la recogida de las muestras hasta su llegada

al laboratorio. Se realizan lecturas de temperatura cada 15'. Los límites de temperatura establecidos son de los 15°C a los 25°C.

Se definieron 13 rutas de mensajería, 10 rutas de atención primaria y 3 de hospitales. El estudio realizado comprende los meses de Septiembre a Diciembre

#### RESULTADOS:

Se observa que entre el 58-69 % de los transportes llegan dentro del intervalo de temperatura establecido. El resto de transportes, con las temperaturas fuera del límite superior, se producen en los meses más cálidos (septiembre-octubre) en el 28% del total y un 30% en los meses más fríos (Noviembre-Diciembre) con temperaturas inferiores al límite inferior. Los orígenes de las incidencias en el proceso de lectura han sido: no se envió el día programado la nevera con sensor correspondiente y falta/exceso de acumuladores de frío.

#### CONCLUSIONES:

Creemos que es un buen sistema para conocer e intentar estandarizar la temperatura de transporte, factor importante para la correcta conservación y procesamiento de las muestras. El registro se debe hacer extensivo a todos los meses del año. Se han propuesto medidas correctivas para mejorar el transporte de las muestras como: incorporar junto con los sensores un calendario en las neveras para que se envíen el día que hay que registrar las temperaturas, tener una persona de contacto por ruta para enviar a los centros los

**RESULTADOS:** obtenidos para trabajar en equipo y mejorar el circuito.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 007

### VALORACIÓN DE UN MÉTODO AUTOMATIZADO PARA LA MEDIDA DE LA CONCENTRACIÓN DE CITRATO EN ORINA DE 24 HORAS

*Trabajo de:* Bioquímica

*Autor/a/s:* Bolaños Hernández María Asunta, Rodríguez Pérez Francisca, Ramos Peña María de la Cruz, Molina Gil María Magnolia, Rodríguez Pulido Benito, Amador Rodríguez Elena

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Doctor Negrín, Análisis Clínicos

*Provincia:* Las Palmas de Gran Canaria

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

#### Introducción:

El citrato es un anión que forma complejos solubles con el calcio inhibiendo la formación de cristales en orina. Por ello, la medida de la concentración de citrato en orina de 24 horas, es de utilidad en el seguimiento de los pacientes con riesgo de nefrolitiasis cálcicas, enfermedad frecuente que afecta al 3-4% de la población. La hipocitraturia aumenta el riesgo de formación de cálculos renales, ya que el citrato es un potente inhibidor de la cristalización de sales de calcio y de la aglomeración de cristales de calcio preformados. La hipocitraturia puede producirse en situaciones patológicas como son, acidosis tubular distal, hipercalcemia, síndrome de malabsorción intestinal y casos de depleción de potasio, también puede verse reducidos sus niveles si se realiza un exceso de ejercicio físico o por la toma de algunos fármacos.

#### Objetivo:

Puesta a punto de un método automatizado para la medida en nuestro laboratorio de la concentración de citrato en orina de 24 horas.

#### Material y métodos:

Se midió las concentraciones de citrato en 46 muestras de orina de 24 horas, de pacientes con riesgo de litiasis cálcica, mediante el método enzimático citrato liasa/malato deshidrogenada de BioSystems S.A. para muestras de plasma seminal, adaptado al módulo 501 del analizador Cobas 6000 Roche Diagnostics (A). Los resultados se compararon con los obtenidos por Reference Laboratory, para las mismas muestras, mediante un método enzimático con espectrofotometría ultravioleta (B). Los datos se recogieron en una tabla de la aplicación Microsoft Office Excel. El análisis de las variables se realizó con el paquete estadístico MedCalc.

#### RESULTADOS:

Los resultados obtenidos con los dos métodos (A Y B) presentaron una media  $\pm$  desviación estándar de  $611,64 \pm 390,36$  y  $590,65 \pm 336,23$  respectivamente, comprobándose mediante la t de Student para datos apareados que no existían diferencias significativas entre dichas medias. La recta de regresión obtenida mediante el método de regresión lineal de Passing-Bablok fue:  $A = 51,70 + 0,926 B$  con intervalos de confianza del 95% para el punto de intersección de 13,27 a 101,33 y para la pendiente de 0,843 a 1,018, donde A representa la concentración de citrato medida en el Cobas y B en Reference Laboratory. Se obtuvo una buena correlación entre ellos con un coeficiente de correlación de Pearson de 0,954 (IC 95%: 0,918-0,974) y una significación estadística  $p < 0,0001$ .

#### CONCLUSIONES:

Los resultados de ambos métodos se correlacionan satisfactoriamente, pudiéndose utilizar el método enzimático citrato liasa/malato deshidrogenada de BioSystems S.A. adaptado en el módulo 501 del analizador Cobas 6000 de Roche Diagnostic para la medición de citrato en orina en nuestro laboratorio.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 022

### VALORACIÓN ANALÍTICA DEL PERFIL LIPÍDICO INCLUYENDO EL ÍNDICE ATEROGÉNICO EN EL PACIENTE DIABÉTICO TIPO 2

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* Ortiz García Juan Diego; Díaz Díaz Angeles María

*Centro de trabajo:* Laboratorio Microbiología Hospital Regional Carlos Haya. Málaga. Laboratorio de Análisis Clínicos Hospital Reina Sofía. Córdoba

*Correo electrónico del primer firmante:* juandiego\_ortiz@yahoo.es

#### Introducción:

Los diabéticos tipo 2 presentan mayor riesgo de desarrollo de complicaciones vasculares (cardiovasculares, cerebrovasculares y de enfermedad vascular periférica) sobre todo cuando la diabetes coexiste con otros factores de riesgo como puede ser la presencia de dislipemias, lo cual va a acelerar el desarrollo de la placa de ateroma y a incrementar la morbilidad y mortalidad en este tipo de pacientes. Por lo tanto, es fundamental la reducción de los factores de riesgo cardiovasculares que predisponen al desarrollo de aterosclerosis en estos enfermos.

#### Objetivo:

Estudio del perfil lipídico, incluyendo el índice aterogénico, como parámetro de riesgo asociado a la diabetes mellitus tipo 2.

#### Material y método:

La muestra incluye 98 pacientes diabéticos tipo 2 seleccionados mediante muestreo aleatorio sistemático pertenecientes a un área de salud urbana de Málaga. A todos ellos se les determinaron los siguientes parámetros bioquímicos: glucosa, urea, creatinina, sodio, potasio, ácido úrico y perfil lipídico por inmunoturbidimetría (Hitachi 747, reactivos Boehringer Mannheim), hemoglobina glicosilada (HbA1c) mediante cromatografía líquida de alta resolución (Hi-Auto A1c, reactivos Menarini). Así mismo se calculó el índice aterogénico expresado por el cociente colesterol total/HDL-colesterol. El programa estadístico empleado para el análisis descriptivo de los datos fue el Programa JMP del SAS Institute.

#### RESULTADOS:

De los 98 pacientes participantes en el estudio el 43.8% eran varones y el 56.2% mujeres. La edad media fue de  $66.09 \pm 8.05$  años. Los valores medios de los parámetros bioquímicos analizados fueron: glucemia basal:  $154.44 \pm 44.83$  mg/dL; HbA1c:  $6.40 \pm 1.21$ %; urea:  $40.68 \pm 11.16$  mg/dL; creatinina:  $1.02 \pm 0.19$  mg/dL; sodio:  $140.40 \pm 2.01$  meq/L; potasio:  $4.45 \pm 0.43$  meq/L; ácido úrico:  $8.26 \pm 1.28$  mg/dL; colesterol total:  $227.84 \pm 36.98$  mg/dL; triglicéridos:  $170.13 \pm 91.46$  mg/dL; HDL-colesterol:  $26.67 \pm 5.65$  mg/dL; LDL-colesterol:  $166.62 \pm 37.24$  mg/dL; colesterol total/HDL-colesterol: 8.54.

#### CONCLUSIONES:

En la población diabética estudiada coexisten otros factores de riesgo cardiovascular tales como hiperuricemia, ligera hipercolesterolemia aislada e índice aterogénico aumentado a expensas de bajos valores de HDL-colesterol, lo que indica la necesidad de promover estilos de vida cardiosaludables y así como la aplicación de medidas correctoras de tipo farmacológicas si fuera necesario, que contribuyan a disminuir la progresión de la placa de ateroma y desarrollo de eventos vasculares.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 024

### EL PAPEL DEL TÉCNICO DE LABORATORIO EN LA CALIDAD DE LAS DETERMINACIONES HORMONALES

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* PINA ECHEVARRIA MARIA JOSE/ CIRIA TORCAL ANA MARIA /PINA ECHEVARRIA SILVIA

*Centro de trabajo:* H.U.MIGUEL SERVET

*Provincia:* Zaragoza

*Correo electrónico del primer firmante:* mariajose20diego@yahoo.es

#### INTRODUCCION:

Actualmente los laboratorios clínicos están inmersos en procesos de acreditación según los requerimientos de la norma UNE-EN ISO 15189. Nuestro laboratorio está involucrado en dicho proceso, y ahí es donde el técnico de laboratorio (TEL) va a ejercer una importante labor influyendo especialmente en mejorar la calidad en las fases preanalítica y analítica. Las determinaciones hormonales, que son claves para diagnosticar y monitorizar diversas patologías, necesitan ser controladas adecuadamente, ya que hay varios factores de influencia a considerar (ritmos circadianos, edad, peso, etc) para proporcionar un resultado de calidad y fiable, y es aquí donde el técnico de laboratorio deber demostrar su competencia para llevar a cabo dichas determinaciones hormonales.

#### Objetivos:

Elaborar instrucciones de trabajo para el técnico de laboratorio, detallando las pautas a seguir para el adecuado tratamiento de las muestras en las que se van a realizar

determinaciones hormonales, tanto en la fase preanalítica como en las fases analítica y post-analítica, con el fin de lograr un perfecto control de calidad de las mismas y reducir el número de incidencias especialmente en la fase pre-analítica.

#### MATERIAL Y METODOS:

Se tuvieron en cuenta los requisitos establecidos por la norma UNE-EN ISO 15189, de cara a los apartados de la fase preanalítica y analítica respectivamente, y se consultaron en bases bibliográficas (PubMed, Embase, etc.) los protocolos y guías de práctica clínica relacionados con la calidad en las determinaciones hormonales. Se realizaron charlas divulgativas a los técnicos para la adecuada recepción y pretratamiento de las muestras en las que se realizarían determinaciones hormonales y durante un período de 6 meses se evaluaron varios indicadores de la fase preanalítica (porcentaje de cumplimiento por parte del paciente de las instrucciones para la recogida/toma de muestra, porcentaje de volantes con los datos antropométricos adecuadamente cumplimentados, porcentaje de envío de muestras en contenedores inadecuados, etc.) para verificar la eficacia de la implantación de las instrucciones elaboradas para y por el técnico de laboratorio.

#### RESULTADOS:

Se desarrollaron dos instrucciones de trabajo específicas para el técnico de laboratorio, junto con flujogramas explicativos en las que se detallaron entre otros aspectos: las cualidades específicas del TEL para realizar las determinaciones analíticas y los criterios de extracción/toma/recogida y transporte de las muestras. Se observó que tras la aplicación de dichas instrucciones se redujeron las incidencias en la fase preanalítica de las determinaciones hormonales en un 60% (especialmente la adecuada recogida y/o toma de muestra, por la importante labor explicativa del TEL al paciente de la dieta a seguir) tras los 6 meses del papel del TEL en la mejora de la fase preanalítica y la implementación de las instrucciones de trabajo desarrolladas.

#### CONCLUSIONES:

Es fundamental tener documentadas y detalladas todas las pautas a seguir para mejorar la calidad en las determinaciones hormonales y es clave la colaboración entre el TEL y el Médico responsable de dichas determinaciones. De nuestro trabajo se deduce que es fundamental la labor del TEL para la explicación de las instrucciones adecuadas en la toma/recogida de muestra por parte del paciente, por ejemplo, en la determinación de catecolaminas o cortisol en orina de 24 horas. Estas explicaciones complementarias, tienen la ventaja de que el paciente comprenda mejor como es la adecuada toma/recogida de la muestra, cumpliendo con la dieta previa establecida, lo que contribuye a que no haya interferencias a la hora de la determinación analítica del parámetro hormonal, y eso se traduce en la entrega de un resultado fiable y de calidad.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 025

#### EL MAGNESIO. VALORES DE NORMALIDAD EN CORDÓN UMBILICAL.

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* PINA ECHEVARRIA MARIA JOSE/ CIRIA TORCAL ANA MARIA /PINA ECHEVARRIA SILVIA

*Centro de trabajo:* H.U.MIGUEL SERVET

*Provincia:* ZARAGOZA

*Correo electrónico del primer firmante:* mariajose20diegoahoo.es

#### INTRODUCCION:

El magnesio (Mg) ocupa el segundo lugar entre los cationes intracelulares, y es un nutriente esencial utilizado en la eclampsia como anticonvulsivante y antihipertensivo y tiene propiedades antiarrítmicas. Se absorbe principalmente en el intestino delgado por algún mecanismo que no está bien definido como tampoco se conoce bien el mecanismo de transferencia placentaria. La hipomagnesemia suele presentarse en gestantes diabéticas que están mal controladas y puede que esté relacionada con el parto prematuro.

#### Objetivos:

Obtener los valores de normalidad en suero de sangre de cordón umbilical, y las carencias materno fetales de este elemento traza, (si se dieran ) para conocer mejor:

La posible prevención carencial en el feto.

Las posibles implicaciones en la patología materno fetal.

#### MATERIAL Y METODOS:

Se determinaron valores de magnesio en una alícuota poblacional procedente de la Comunidad Aragonesa de 172 sueros de sangre de cordón de neonatos.

Población femenina = 74

Población masculina = 98

La extracción de sangre se realizó inmediatamente después del parto. Los sueros que no se pudieron procesar en el día se congelaron y guardaron hasta su utilización a -70°C.

Los sueros no procesados al día, fueron guardados un tiempo máximo de una semana. Los niveles de Mg sérico fueron determinados con el método colorimétrico con clorofosfonato III (Ferguson JW, et al) en el analizador Cobas c 501 de Roche. Factor de conversión: [mg/dl] x 0,4114 = [mmol/l].

Para el tratamiento estadístico de los datos se utilizaron los programas Excel (office 2007) y el SPSS versión 15.0.

#### RESULTADOS:

Los valores obtenidos fueron en los cordones masculinos ( $1,56 \pm 0,52\text{mg/dL}$ ) y en los cordones femeninos ( $1,67 \pm 0,40\text{mg/dL}$ ). Los valores de Mg en suero de cordón umbilical fueron menores en los varones. Las hipomagnesemias con valores  $<1\text{mg/dL}$  se presentan con mayor frecuencia en varones (13,27%) que en mujeres (6,27%). A pesar de que la muestra poblacional correspondía a gestantes sin aparente patología se encontró un 32% de complicaciones gestacionales.

#### CONCLUSIONES:

No se observan relación entre las hipomagnesemias y las patologías de parto en los pacientes estudiados

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 027

#### “AVANCES EN EL DIAGNÓSTICO Y MONITORIZACIÓN DEL SÍNDROME CORONARIO AGUDO.”

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* Belén Vizcaino Hernández, Jose Ángel Fernández Cadenas.

*Centro de trabajo:* Hospital Clínico Universitario de Valladolid

*Provincia:* Valladolid

*Correo electrónico del primer firmante:* portalito76@hotmail.com

#### INTRODUCCION:

La cardiopatía isquémica, es la principal causa de mortalidad en el mundo, con una mayor incidencia en los países donde la esperanza de vida es mayor.

La troponina T constituye uno de los componentes del aparato contráctil de la musculatura cardíaca.

En el año 2000 el comité conjunto de la European Society of Cardiology/American College of Cardiology consideraban que en un contexto clínico sugestivo de síndrome coronario agudo (SCA), una elevación de las concentraciones de troponina que excedan el percentil 99 de una población sana de referencia (0.01 ng/ml), se consideraba indicativo de necrosis miocárdica isquémica y por consiguiente establecía el diagnóstico de Infarto de Miocardio Agudo. En este mismo reporte se recomendaba que la imprecisión analítica expresada a través del coeficiente de variación fuese inferior al 10 % para el valor del percentil 99 (0.03 ng/ml)

Por todo ello la troponina T es el marcador de elección de necrosis miocárdica en pacientes con Síndrome Coronario Agudo, lo que permite predecir qué pacientes son los que tienen un mayor riesgo de padecer nuevos episodios, aún cuando la liberación a sangre de troponina sea muy pequeña.

#### Objetivo:

Con métodos ultrasensibles se pueden medir concentraciones de troponina T inferiores al percentil 99 ( $<0,01\text{ ng/ml}$ ) de la población de referencia, con una imprecisión analítica menor del 10% expresada en coeficiente de variación ( $<0,03\text{ ng/ml}$ ) permitiendo detectar patología cardíaca precozmente ya que la concentración mínima detectable es de hasta diez veces inferior.

#### MATERIAL Y MÉTODO:

En este estudio se determinaron las concentraciones de troponina T mediante el autoanalizador e601, en 192 individuos con un alto porcentaje de mujeres, con un Síndrome Coronario Agudo. Utilizando el test Elecsys® Troponin T (troponina T de 4ª generación), y el método Troponin T High Sensitive® de Roche Diagnostics.

#### RESULTADOS:

Podemos comprobar la precocidad con la que se eleva la troponina en el Síndrome Coronario Agudo. En las tres primeras horas hasta un 70% de los casos, con el análisis ultrasensible, frente al 7% del análisis actual y entre 3-6 horas en el 100% y el 83% respectivamente.

#### CONCLUSIÓN:

La sensibilidad y precisión aumentada del análisis de la troponina T ultrasensible hacen de esta técnica, una herramienta muy valiosa y necesaria para detectar el mínimo daño cardíaco y diagnosticar precozmente pacientes con riesgo de padecer Infarto Agudo de Miocardio y otras patologías cardíacas. Aún así no hay que descartar la idea de la asociación con otros biomarcadores para aumentar la especificidad en el diagnóstico.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 028

#### CÁLCULO INFECCIOSO EN PACIENTE DIAGNOSTICADA DE ESTENOSIS PILELOURETRAL

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* Teresa Sierra Vazquez, Cristina Perez-Quevedo montenegro, Josefa Otero Abreu, Patricia Janeiro Varela.

*Centro de trabajo:* Complexo Hospitalario Universitario de Vigo

*Provincia:* Pontevedra

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

## Introducción:

La orina contiene sustancias que inhiben la cristalización, pero si se sobresatura con materia insoluble por excreción excesiva, o por la dificultad extrema de conservación de agua, se forman cristales que cuando se agregan pueden llegar a formar cálculos. Malformaciones congénitas o adquiridas que afecten a la función renal aumentarán exponencialmente la posibilidad de formarlos.

El paciente podrá presentar polaquiuria, tenesmo, disuria, y otras manifestaciones clínicas que en nuestro caso incluyó infecciones urinarias recurrentes. Un correcto análisis del cálculo junto al diagnóstico diferencial redundará en beneficio del enfermo además de posteriores medidas dietéticas y tratamiento.

## Nuestro caso:

Niña diagnosticada a los 9 años de estenosis pieloureteral severa.

Ingresa posteriormente con infección urinaria por *Klebsiella Pneumonie* y pielonefritis aguda izquierda a la que se coloca catéter de nefrostomía siendo intervenida por estenosis pieloureteral.

Se coloca catéter doble J que es necesario cambiar por desplazamiento, la ecografía muestra una imagen sospechosa de bucle del catéter en vejiga.

Se retira el catéter el cual lleva adherido al mismo, materia orgánica, y se envía a nuestro laboratorio.

## Material y métodos:

Utilizamos un Kit. Comercial de DiaSys Diagnostic Systems GmbH para análisis de cálculos urinarios.

Lavamos el cálculo con agua destilada, para eliminar cualquier resto de sangre, moco, coágulos, soluciones conservantes etc.

A continuación pasamos al examen físico: color, forma, aspecto, consistencia.

Seguidamente lo pulverizamos y agitando se disuelve en la navetilla el contenido de una espátula con 5 gotas de

Sulfúrico 95-97%, con esto, estudiamos la presencia de carbonatos.

Por último llenamos un vaso aforado con agua destilada hasta un tercio y la muestra, enrasamos hasta 50 ml. Esta solución se empleó para la marcha analítica.

## RESULTADOS:

En el examen físico observamos.

Color: amarillo pardusco

Forma: de bolas desorganizadas.

Aspecto: variable, rugoso y liso.

Consistencia: de dureza intermedia.

Por la acción del sulfúrico

Se forma espuma (CO<sub>2</sub>), indicando la presencia de carbonatos descompuestos.

El análisis químico determina la presencia de estruvita con restos minoritarios de apatita y materia orgánica.

## CONCLUSIONES:

Con nuestros resultados, se descarta la sospecha del bucle del catéter doble J en vejiga.

El estudio metabólico mineral en el diagnóstico de la litiasis renal es importante por su prevalencia, y su tendencia a la recurrencia, del mismo modo que al conocer su composición nos dará idea acerca de su etiopatogenia. Los métodos de estudio de los cálculos infecciosos son sencillos, no sucede lo mismo con las litiasis cálcicas. Es de destacar la relación de nuestro laboratorio con Cirugía pediátrica, pues esta paciente estaba afectada de una malformación por estenosis pieloureteral (EPU), con resultado de infección recurrente por gérmenes productores de ureasa.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 029

## (INCIDENCIA del HIPOTIROIDISMO SUBCLÍNICO en el LABORATORIO del HOSPITAL BASURTO)

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: (Martínez Betanzos Alejandra, Macho García Rita, Bueno Aceña Eduardo, Eguileor Gurtubai Manuel y Aguayo Gredilla Francisco Javier)

Centro de trabajo: (HOSPITAL BASURTO. Laboratorio 24 horas. BILBAO)

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

## INTRODUCCION:

El estudio de las hormonas implicadas en el funcionalismo de la glándula tiroidea, es una de las solicitudes más frecuentes que se realizan al laboratorio clínico, tanto en pacientes atendidos por endocrinólogos, como en pacientes ambulatorios que acuden a su médico de cabecera. Dentro de la patología tiroidea, se detecta en muchas ocasiones la presencia de un hipotiroidismo subclínico, patología que aunque no se haya demostrado que esté relacionada con síntomas clínicos, y de no necesitar tratamiento sustitutivo con hormonas tiroideas, precisa de un control periódico para vigilar su evolución hacia una enfermedad clínica.

## Objetivos:

Analizar la demanda de análisis de estudios tiroideos en el laboratorio del hospital de Basurto durante el año 2010, clasificando a los pacientes en Eutiroideos, Hipotiroideos (clínicos y subclínicos) e Hipertiroideos en función de sus resultados analíticos. Valorar

la frecuencia del hipotiroidismo subclínico, dentro del total de pacientes hipotiroideos en nuestro centro.

## MATERIAL Y METODOS:

Se analizaron las solicitudes recibidas en el laboratorio del Hospital de Basurto durante el año 2010 a partir de una consulta Access sobre la base de datos del Sistema Informático de laboratorio (Omega). Se estudiaron el número de solicitudes de Tirotropina (TSH), Tiroxina Libre (T4L) y Triyodotironina (T3L). Se consideran valores normales para estas hormonas los siguientes rangos: TSH (0.27-4.2 mIU/mL); T4L (12-26 pmol/L); T3L (3.95-6.8 pmol/L). Clasificamos a los pacientes según los siguientes criterios: Eutiroidismo: TSH normal; Hipotiroidismo clínico: TSH alta con T4L baja; Hipotiroidismo subclínico: TSH elevada con T4L Normal; Hipertiroidismo clínico: TSH disminuida con T4L y/o T3L elevadas

## RESULTADOS:

En el año 2010 se determinaron 98.833 TSH, 70.380 T4L y 5.544 T3L. Esto representó el 46,5 del nº total de solicitudes analíticas a la sección de hormonas de nuestro laboratorio. Se encontraron 70.101 (71 %) pacientes eutiroideos, 13.147 (13,3%) pacientes con la TSH disminuida y 15.585 (15,7%) pacientes con la TSH elevada. Estudiando globalmente los resultados de las determinaciones hormonales, se detectaron 947 (0,96%) pacientes con hipertiroidismo clínico, 921 (0,93%) con hipotiroidismo clínico y 14.400 (14,6 %) con hipotiroidismo subclínico. Por tanto, el 5,9% de los hipotiroidismos fueron clínicos, mientras que la gran mayoría (92,4%) fueron subclínicos.

## CONCLUSIONES:

\* El estudio tiroideo es la solicitud más frecuente al laboratorio de hormonas.

\* El hipotiroidismo es la patología más frecuente detectada en nuestros pacientes.

\* El hipotiroidismo subclínico, representa más del 90% del total de los hipotiroidismos

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 030

## COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS INMUNOTURBIDIMÉTRICOS PARA LA MEDIDA DE PROTEÍNA C REACTIVA CON ESPECTRO AMPLIADO

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Dolores Garrido Rubio, María Jesús de Pedraza Hernández, Ángel Farao Gómez, Beatriz López Espeso, Prado Patiño Naranjo y Joaquín Sánchez Cuadrado

Centro de trabajo: HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DEL PRADO

Provincia: TOLEDO

Correo electrónico del primer firmante: laermita14@hotmail.com

## Introducción:

Desde su descubrimiento en 1930 la proteína C reactiva (PCR) se ha utilizado como marcador agudo de inflamación en los laboratorios de urgencia. Con la introducción de métodos de alta sensibilidad (hsCRP) se han podido evidenciar incrementos de pequeña intensidad de la concentración de PCR, que ocurren en inflamaciones crónicas como la que se da en la aterosclerosis. Por ello en la actualidad ha emergido como marcador de riesgo cardiovascular, al tiempo que ha conservado en parte su uso como reactante de fase aguda en procesos infecciosos o no. Esto ha motivado que junto a los métodos clásicos, que cubren el rango de 5 a 200 mg/L y a los de alta sensibilidad, capaces de detectar hasta 0.1 mg/L, hayan surgido métodos combinados de rango ampliado, que cubren desde 0.5-1 mg/L hasta 250 mg/L.

## Objetivos:

En el presente estudio nos planteamos evaluar la transferibilidad de resultados entre dos métodos inmunoturbidimétricos para la medida de PCR de espectro ampliado usados en nuestro laboratorio. En concreto evaluamos el método R-CRP para la plataforma Unicell DXC (IZASA®), de reciente introducción en nuestro laboratorio (rango: 1-250 mg/L) frente a el usado hasta ahora en la plataforma DIMENSION EXL (SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS®), con un rango analítico desde 0.5 hasta 250 mg/L.

## Material y métodos:

Se analizaron 95 plasmas procedentes de sangre anticoagulada con heparinato de litio obtenidos de pacientes que acudieron al Servicio de Urgencias de nuestro hospital. El plasma se obtuvo por centrifugación a 1700xg durante 5 minutos. Las determinaciones se hicieron en paralelo por los dos equipos cubriendo todo el intervalo analítico y se llevaron a cabo en 10 días consecutivos. Los datos se sometieron a un análisis de regresión de Passing-Bablok, calculándose la recta de regresión y el coeficiente de correlación de Pearson mediante el paquete estadístico MedCalc.

## RESULTADOS:

Para el método a evaluar se obtuvo un valor máximo de 238.6 mg/L y un mínimo de 1 mg/dL con una media de 44.88 desviación estándar de 63.80, mientras que para el método de referencia se obtuvo un valor máximo de 255.1 mg/L, con una media de 42.93 y una desviación estándar de 60.81. Los valores mínimos coincidieron con el límite de detección de las técnicas. La ecuación de la recta de regresión obtenida fue  $Y = 1.0157X - 0.0157$ , donde Y representa el método evaluado (Unicell) y X el de referencia (Dimension). El coeficiente de correlación de Pearson fue  $r = 0.9968$ , lo que indica una correlación muy satisfactoria.

## CONCLUSIONES:

Puesto que el 95% del intervalo de confianza para la pendiente comprende la unidad y para la ordenada en el origen contiene el cero y dado el elevado valor de  $r$ , consideramos que la correlación entre los dos métodos es excelente y que los resultados son transferibles entre las dos plataformas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 035

### EVALUACION DEL ERROR PREANALÍTICO EN LA DETERMINACIÓN DE LA GLUCOSA

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: MONGE CAMACHO MARIA DEL PATROCINIO; GONZALEZ ALVARADO JUDIT; RIOS RAMOS MARIA JOSEFA;

Centro de trabajo: SERVICIO DE BIOQUIMICA CLINICA. HOSPITAL VIRGEN DE VALME DE SEVILLA

Provincia: SEVILLA

Correo electrónico del primer firmante: majesti16@gmail.com

#### Introducción:

La evolución de los laboratorios clínicos se ha caracterizado por la introducción de grandes analizadores, el desarrollo de sistemas informáticos, y la aparición de nuevos procedimientos bioquímicos. Este avance tecnológico ha permitido una mejora en la fase analítica y en la calidad de los resultados obtenidos, optimizando además los costes por determinación. Estos factores han favorecido la implantación de un modelo de concentración de un gran número de muestras, procedentes de diversos puntos de extracción, en grandes laboratorios con una amplia cartera de servicios; sin embargo introduce nuevos problemas, como la conservación adecuada de las muestras durante el transporte desde estos puntos periféricos. Es conocido el aumento del consumo de la glucosa al incrementarse el tiempo previo a la centrifugación, en las muestras que se recogen en un tubo sin inhibidor de la glucólisis, por lo que nos planteamos la evaluación de este error en nuestras condiciones de trabajo.

#### Objetivo:

Evaluación del error preanalítico en la determinación de la glucosa en suero obtenido en tubo sin inhibidor de la glucólisis.

#### Material y métodos:

Determinamos la concentración de glucosa (método hexokinasa en el autoanalizador Cobas 711 de Roche) a 475 pacientes de dos puntos de extracción de nuestra área, a los que se extrajo un tubo de suero (tapón amarillo) con gel sin inhibidor de la glucólisis, y otra muestra recogida en tubo con 1.5 mg de iodoacetato (tapón gris) que inhibe la glucólisis.

El transporte se realiza en nevera hasta el laboratorio, centrifugamos las muestras inmediatamente tras su recepción y procedemos al análisis.

Los resultados obtenidos en ambos tubos se comparan por test no paramétricos de Wilcoxon, analizando los datos gracias al paquete estadístico 18.00 spss.

#### RESULTADOS:

La distribución de la concentración de glucosa en los tubos de tapón amarillo (sin inhibidor de glucólisis) posee una mediana de 75mg/dl con un percentil 25 de 69mg/dl y un percentil 75 de 83mg/dl.

La distribución de la concentración de glucosa en los tubos de tapón gris (inhibidor de la glucólisis) posee una mediana de 85mg/dl con un percentil 25 de 80mg/dl y percentil 75 de 93mg/dl. Aplicamos la prueba no paramétrica de Wilcoxon para ver si las medianas de los dos métodos son iguales.

- Se observan diferencias significativas entre las medianas ( $p < 0.0005$ ).

- Cuantificamos esa diferencia detectada.

- IC 95% (diferencia de las medianas de glucosa Tgris-Tamarillo): (9.500-10.5).

- Estimación de la diferencia: 10mg/dl más observados la concentración de glucosa en los tubos con inhibidor de la glucólisis sobre los que no lo incluyen.

#### CONCLUSIONES:

La muestra de elección para la determinación de la concentración de la glucosa sería la recogida en un tubo con inhibidor de la glucólisis. (Tubo gris)

La realización de la glucosa en suero que no se han separado inmediatamente después de la coagulación de las células sanguíneas da lugar a importantes errores por defecto, que podrían llevar a fallos diagnósticos en la detección temprana de Diabetes Mellitus o dar lugar a interpretaciones erróneas, como falsas hipoglucemias.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 042

### LITIASIS OXOCÁLCICA: DIFERENCIACIÓN ANALÍTICA ENTRE WHEWELLITA (MONOHIDRATO) Y WEDDELLITA (DIHIDRATO).

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: TERESA VILASECA GASAU, ELISABET PEREZ NIEVES, EVA MARIA IGLESIAS ALVAREZ, JAUME BARALLAT MARTINEZ DE OSABA, INGRID VILAJUANA LÓPEZ, VANESA BARRAGÁN LÓPEZ, MARC MORALES INDIANO.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO GERMANS TRIAS I PUJOL, LABORATORIO URGENCIAS DE BIOQUIMICA

Provincia: BARCELONA

Correo electrónico del primer firmante: asiel15476msn.com

#### Introducción:

Los cálculos de oxalato cálcico son la causa del 70-75% de las litiasis renales. Se presentan en forma de oxalato cálcico monohidrato (Whewellita) y oxalato cálcico dihidrato (Weddellita) o mezcla de ambos aunque su forma más frecuente es la monohidratada. Los cálculos de Whewellita pueden ser papilares o de cavidad y los de Weddellita son de cavidad.

#### Objetivo:

El objetivo de esta presentación es estudiar la diferenciación macroscópica-estructural y analítica de litiasis de oxalato cálcico, en sus dos variantes Weddellita y Whewellita.

Material: Durante las fechas comprendidas entre el 15/11/2010 hasta el 15/02/2011 se han recibido un total de 66 cálculos urinarios, de los cuales 36 fueron analizados resultando whewellita (monohidrato) y 25 mixtos whewellita y weddellita (dihidrato).

El examen de las características macroscópicas-estructurales, permite un acercamiento a la composición del cálculo, para ello hemos realizado una observación por estereoscopia (aspecto, forma, tamaño, color, dureza, estructura interna, radial en capas, desorganizada), se utiliza un Estéreo-microscopio óptico de luz reflejada (60x) con zoom. Posteriormente se procede a triturar el cálculo hasta convertirlo en un polvo homogéneo utilizando un mortero y pistilo de ágata (ya que es de composición muy dura y no contamina el analito).

Para el análisis de la muestra por espectrometría de infrarrojos utilizamos un analizador Spectrum BX Perkin Elmer. Este aparato mide la cantidad de radiación infrarroja (transmitancia) que deja pasar la muestra en un determinado intervalo de longitudes de onda. El espectro obtenido se compara con la librería específica de cálculos urinarios. La observación macroscópica-estructural y el análisis por espectrometría infrarroja son pruebas complementarias.

#### RESULTADOS:

En la determinación macroscópica-estructural, observamos que el cálculo de oxalato cálcico (whewellita), es de pequeño tamaño, redondeado, color marrón oscuro, duro al corte y compuesto por formas cristalinas en disposición radial. Tras observar macroscópica-estructuralmente su otra variante, el cálculo de oxalato cálcico (wedellita), comprobamos que tiene una estructura menos compacta, color ámbar, formada por cristales en forma de hojas yuxtapuestas.

Tras una comparación de los espectros obtenidos de las dos especies moleculares, apreciamos que a una longitud de onda entre 3500-3050 cm<sup>-1</sup>, (bandas asignadas al agua), la whewellita presenta unas bandas desdobladas. En la deformación de los grupos OH, muestra una banda entre 850-870 cm<sup>-1</sup>. A una longitud de onda de 780 nm, localizamos una banda fina e intensa.

En diferenciación con la Weddellita, a una longitud de onda 3500 nm, aparece una banda amplia e intensa, pero no observándose a 3050. No aparecen bandas en la deformación de los grupos OH entre 850-870 nm y a una longitud de 780 nm, se aprecia una banda menos intensa y roma.

**Conclusión:** Los datos obtenidos tras la observación macroscópica-estructural, más el conocimiento de la composición química informan sobre los diversos factores que conducen al desorden biológico inductor de la litiasis. El origen de su formación es diferente por lo que su diferenciación es de capital importancia porque condiciona la terapéutica farmacológica y dietética del paciente.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 045

### ALTERACIONES LIPÍDICAS EN EL HIPOTIROIDISMO SUBCLÍNICO

Trabajo de: Bioquímica.

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

Centro de trabajo: SERVICIO BIOQUIMICA CLINICA. HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE VALME.

Provincia: SEVILLA

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

#### Introducción:

El hipotiroidismo subclínico, es aquella alteración en la que la TSH se encuentra elevada y las hormonas tiroideas están dentro de la normalidad. Es, por tanto, un concepto bioquímico.

La prevalencia varía en los distintos estudios de un 3 al 15 %. Su significación clínica es controvertida, aunque se le atribuyen efectos adversos sobre corazón, hueso y No obstante, la mayoría de las publicaciones sobre esta patología tratan de su relación con la dislipemia y de forma indirecta con la arteriosclerosis y cardiopatía isquémica.

#### Objetivo:

Conocer las alteraciones lipídicas que presentan los pacientes con hipotiroidismo subclínico en nuestra área.



## Material y método:

Se han revisado las concentraciones en suero de colesterol y triglicéridos, de 1308 pacientes con hipotiroidismo subclínico (TSH>5 y T4 y T3 libre dentro del rango de referencia). Se midieron las concentraciones de TG y Col en el COBAS C 711 (Roche Diagnostics), que utiliza técnicas fotométricas. Las concentraciones de TSH, T4 y T3 se realizaron en ELECY5 170 triple E (Roche Diagnostics), por técnicas de electroquimioluminiscencia. Se estableció como punto de corte para el Colesterol: 200 mg/dl y para los Triglicéridos: 150 mg/dl.

## RESULTADOS:

De los 1308 pacientes revisados, 856(65,5%) presentaron alteración del perfil lipémico: 445 pacientes (34%) sólo alteración en los niveles de colesterol; 104 pacientes (8%) sólo alteración en los niveles de triglicéridos y 307 pacientes (23,5%) presentaron alteración tanto en los niveles de colesterol como de triglicéridos.

## CONCLUSIONES:

Al igual que la bibliografía encontramos una alta prevalencia de alteraciones lipémicas en pacientes con hipotiroidismo subclínico. Dado el papel de la dislipemia como factor de riesgo cardiovascular, es importante un diagnóstico precoz del hipotiroidismo subclínico, para diseñar estrategias de tratamiento, que mejoren estas alteraciones.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 046

## INTERÉS DE UN SISTEMA DE COSTES EN EL LABORATORIO

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: GARCÍA PERELA, INMACULADA

Centro de trabajo: ANÁLISIS CLÍNICOS. H. U. LA PRINCESA. MADRID

Correo electrónico del primer firmante: igperela@wanadoo.es

## Introducción:

Las tareas de gestión de los laboratorios también son competencia de los técnicos, por ello es conveniente tener una idea que nos ayude a entender, colaborar e implicarnos más en las decisiones.

Normalmente, la toma de decisiones se basa en datos proporcionados por otros departamentos, o en datos propios, pero que no permiten un análisis sistemático y continuo de sus costes que ayuden a optimizar su gestión.

Los problemas más comunes en la gestión de un laboratorio son:

¿Cuánto cuesta una determinación?

¿Conviene hacer una prueba por un método o por otro?

¿Se puede aceptar o fijar un precio?

¿Se debe cambiar y/o comprar un nuevo aparato?

¿Debemos incorporar/abandonar una nueva determinación o toda una línea?

¿Nos conviene hacer un determinado reactivo o es mejor comprarlo?

¿Se necesita un aumento/disminución de personal?

¿Se gasta más nuestro laboratorio público/privado que otro privado/público en hacer la misma determinación con la misma calidad?

Etc., etc..

## Objetivo:

Mostrar cómo hemos implantado un sistema de costes en el laboratorio que permite responder a las preguntas que nos hemos formulado anteriormente, entre otras y, por tanto, gestionar de forma más técnica y económica.

## MATERIAL Y MÉTODO:

Basándonos en la contabilidad analítica o de costes, hemos desarrollado una base de datos en Excel donde pueden incluirse todos los gastos correspondientes a la cuenta de resultados y que debe contemplar: retribuciones, amortizaciones y mantenimiento, material y consumo y gastos estructurales.

Me centro en los costes de material y consumo, que son los que manejamos con asiduidad y nos resultan más familiares. Para reflejarlos, al menos debemos conocer: las pruebas que se realizan, el número de determinaciones anuales, los reactivos que intervienen directamente en cada determinación y los materiales que intervienen indirectamente.

En el libro de Excel dedicamos una hoja para los costes directos de cada una de las secciones del laboratorio y otra para los costes indirectos.

Cada hoja reflejará los costes parciales y totales de los reactivos usados para cada determinación y otros datos como: códigos de cada prueba, nombre de la misma, método, número de terminaciones anuales, cantidad de consumos, importe de los consumos, stock de reactivos, etc.

## DISCUSIÓN

Un sistema como el expuesto permite: calcular el coste por determinación, construir curvas de costes para ver la tendencia de los mismos, efectuar análisis de simulación con distintos supuestos, evaluar los resultados de un departamento y fijar o aceptar un precio en los concursos; facilita las acreditaciones, certificaciones y auditorías; permite disponer de una amplia base de datos para cualquier requerimiento por parte de la dirección o consejería correspondiente.

## CONCLUSIÓN

Implantar un sistema de costes de uso interno, no sujeto a la legislación mercantil y más real, lleva a una mayor implicación de todo el personal del servicio, permite una gestión objetiva en la toma de decisiones y, en fin, facilita la adaptación permanente a un entorno en constante cambio.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 050

## DETERMINACION DEL PROPEPTIDO LIBERADOR DE GASTRINA (PROGRP) Y ENOLASA NEURONAL ESPECIFICA (NSE). SU UTILIDAD EN EL CANCER MICROCITICO DE PULMON.

Trabajo de: Bioquímica.

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 de Valladolid. Servicio de Análisis Clínicos.

Correo electrónico del primer firmante: anamlorenzo@hotmail.com

## Introducción:

El péptido liberador de la gastrina (GRP) y la enolasa específica neuronal (NSE) son moléculas que están asociadas con tejidos derivados del sistema neuroendocrino y tumores.

La GRP es una hormona, a menudo producida por las células del carcinoma microcítico de pulmón, que se encuentra en sangre en concentraciones muy bajas. A causa de su inestabilidad se realiza la medición de su precursor, el propéptido liberador de gastrina (ProPRG) que es mucho más estable.

La NSE es un enzima glucolítico y constituye un marcador para el control del carcinoma bronquial de células pequeñas

## Objetivo:

Este trabajo pretende probar la utilidad diagnóstica de ambos marcadores en el estudio del cáncer de pulmón microcítico (CPM).

## Material y métodos:

Determinamos el valor del ProPRG y la NSE en suero de 98 pacientes procedentes de distintos servicios de nuestro hospital. La técnica utilizada para la cuantificación del ProPRG y NSE fue un inmunoanálisis quimioluminiscente realizado en el Architect (Abbott) y Cobas (Roche) respectivamente.

Se agruparon los pacientes en las siguientes patologías teniendo como referencia el diagnóstico de Anatomía Patológica. Cáncer de pulmón microcítico (CPM) 23, cáncer de pulmón no microcítico (CPNM) 10, patología tumoral extrapulmonar 11, tumores neuroendocrinos extrapulmonares 6, patología benigna 44, e insuficiencia renal 4.

## RESULTADOS:

El estudio estadístico se realizó utilizando las pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis. Los resultados se han obtenido con el programa estadístico SPSS y se expresan con la mediana y el rango intercuartílico en esta tabla.

Diagnostico	ProGRP	Enolasa
CPM.	963-3392	24-105
CPNM	107-392	12-22
Patología tumoral extrapulmonar	56-73	28-75
Tumores neuroendocrinos extrapulmonares	20-66	67-299
Patología benigna	45-85	10-12
Insuficiencia renal	25-121	13-13,5

Se obtienen diferencias estadísticamente significativas en ambos marcadores para los distintos diagnósticos, ProGRP (p-valor 0,001) y NSE (p-valor= 0,016).

## CONCLUSIONES:

A la vista de los resultados obtenidos se considera la ProGRP el marcador más útil para diferenciar el CPM de otras patologías, entre ellas el CPNM.

La NSE, en relación con la ProGRP, se eleva más en tumores neuroendocrinos extrapulmonares siendo por ello un marcador menos específico en el CPM.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 051

## ESTUDIO DE LOS NIVELES DE CEA Y CA 19.9 EN PACIENTES CON DIFERENTES ESTADIOS DE CANCER DE COLON.

Trabajo de: Bioquímica.

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 de Valladolid. Servicio de Análisis Clínicos.

Correo electrónico del primer firmante: anamlorenzo@hotmail.com

## Introducción:

El cáncer de colon supone un importante problema de salud pública en los países desarrollados. Es el cuarto cáncer más frecuente en el mundo y la segunda causa de muerte por tumores en España.

El antígeno carcinoembrionario (CEA) es una glicoproteína que se encuentra elevada en diferentes tipos de tumores y algunas afecciones no malignas. El antígeno carbohidrato (CA 19.9) es una glicoproteína que aumenta su concentración en cánceres gastrointestinales, en especial en páncreas.

## Objetivo:

Observar si existen diferencias en los valores de CEA y CA 19.9 entre pacientes con diferentes estadios de cáncer de colon y un grupo control. Conocer si estos valores están influenciados por la edad o el sexo y analizar la correlación entre ambos marcadores.

## Material y métodos:

Se realiza un inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas, en el autoanalizador Architect de la casa Abbott, a 73 sueros para la determinación cuantitativa de los niveles de CEA en ng/ml y CA 19.9 en UI/ml.

Los 73 pacientes estudiados son 36 hombres y 37 mujeres con una media de 66 años de edad. Para el grupo patológico se han seleccionado 44 con adenocarcinoma de colon: 5 con carcinoma in situ, 10 en estadio I, 11 en estadio II, 12 en estadio III, y 6 en estadio IV. Como grupo control se han elegido 29 pacientes en los que se observó por colonoscopia pólipos adenomatosos sin displasia (21 casos) y con displasia leve (8 casos).

Para el estudio se utilizó el programa estadístico SPSS. La comparación de medias aplicando la prueba U de Mann Whitney, el análisis de la varianza con la de Kruskal Wallis y el test no paramétrico de Spearman para la correlación.

## RESULTADOS:

La mediana que se obtuvo en el CEA para el grupo control fue de 1 ng/ml con un rango intercuartílico de 1,33, mientras que en el grupo afectado de adenocarcinoma la mediana fue de 2 ng/ml con un valor intercuartílico de 5,33 ( $p=0.007$ ). En cambio, en los valores de CA 19.9, no se registraron diferencias relevantes ( $p=0.339$ ) entre ambos grupos. Aunque los niveles de estos parámetros aumentan a medida que se incrementa el estadio del tumor, no se han hallado diferencias estadísticamente significativas en los valores de los citados marcadores.

Observamos que ni la edad ( $p=0.417$ ), ni el sexo ( $p=0.575$ ), ni la patología ( $p=0.170$ ) afectan de forma significativa los niveles de CA 19.9. En el caso del CEA ni la edad ( $p=0.233$ ), ni el sexo ( $p=0.510$ ) le afectan, pero si padecer la patología ( $p=0.048$ ).

Se ha encontrado una buena correlación entre los niveles de CA 19.9 y CEA ( $p=0.003$ ).

## CONCLUSIONES:

En los enfermos con cáncer de colon el CEA está aumentado de forma significativa, dependiendo del estadio tumoral, mientras que los valores que se obtienen para el CA 19.9, no se ven influenciados en nuestro estudio por la edad, el sexo o estadio de la enfermedad. Aunque ambos parámetros mantienen una buena correlación en sus valores, es posible que el tamaño muestral haya influido en las diferencias encontradas en el comportamiento de ambos marcadores.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 052

## EVALUACIÓN DEL LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO (LCR) EN EL LABORATORIO DE BIOQUÍMICA DE URGENCIAS(LUR) ANTE SOSPECHA DE MENINGITIS

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Pilar Guillen Esteban, Isabel Sanchez Donaire, Isabel Barcones Jimenez

Centro de trabajo: (Hospital Universitario de Mostoles )

Provincia: (Madrid)

Correo electrónico del primer firmante: : brevas@hotmail.com

## RESUMEN:

La meningitis es una emergencia médica, caracterizada por la inflamación de las meninges. El origen más frecuente de este tipo de inflamación son los virus ó bacterias, otras causas menos habituales pero potencialmente letales son las infecciones por hongos, las intoxicaciones incluídas las medicamentosas y otras enfermedades no infecciosas (cáncer, enfermedades auto-inmunes.) La meningitis progresa con mucha rapidez, por lo que el diagnóstico y tratamiento precoz es importante para prevenir secuelas severas e incluso la muerte. Para el diagnóstico es esencial el análisis del líquido cefalorraquídeo (LCR) en el se efectúa un recuento leucocitario y se cuantifican glucosa y Proteínas.

## Objetivo:

Nuestro objetivo es Evaluar los resultados de las muestras procesadas en el Laboratorio de Urgencia (LUR) durante el año 2010, para orientar a realizar un primer diagnóstico y tratamiento de la patología de la meningitis.

## MATERIAL

Tubo estéril sin aditivos, pipeta, cámara de recuentos, Microscopio, líquido de tinción diferencial de fluidos, Autoanalizador.

## METODO

Se carga la cámara de recuento por capilaridad con LCR, se hace el cotejo con un objetivo

de 40 X. El volumen total de la cámara de Rosenthal es de 3.2 mm<sup>3</sup>, y 1 mm<sup>3</sup> corresponde a 5 cuadros grandes, que contienen cada uno de ellos otros 16 cuadros mas pequeños. Si la cifra de leucocitos supera 21/mm<sup>3</sup> se hace una tinción para realizar un recuento diferencial de la población leucocitaria (MN ó PMN). La Glucosa y las Proteínas se cuantifican en un Autoanalizador Dimension RXL ( Siemens). El análisis de los parámetros del recuento microscópico diferencial, junto con las determinaciones de bioquímica nos dará la información necesaria para clasificar si el LCR es patológico.

## VALORACION

Se considera patológico un LCR cuando se observan más de 5 células/mm<sup>3</sup> en adultos y 10 células en Neonatos.

Las meningitis Bacterianas cursan generalmente con: Leucocitos elevados PMN (polimorfonucleados) glucosa < 60% de la glucosa sérica, Proteínas >15-45 mg/dl en adultos y Proteínas > 45-120 mg/dl en Neonatos.

Las meningitis Viricas el recuento celular es elevado aunque menos que en las bacterianas y predominan los leucocitos MN (mononucleados) glucosa normal, Proteínas elevadas.

## RESULTADOS:

En el año 2010 se analizaron en el LAB. Bioq.Urg (LUR) 298 muestras de LCR. El 23% corresponde a pacientes pediátricos ,76 % a adultos y 1% punciones traumáticas y no valorables.

El 31% de las muestras (LCR), presentaba conteo celular > 5 cels/mm.

Se hizo recuento leucocitario diferencial a aquellos líquidos que superaron 21 leucocitos /mm<sup>3</sup> 41 ( 14%) muestras del total de las patológicas De ellas, en 17 (6%) se observo predominio de leucocitos mononucleados, y 9 ( 4 %) cursaban con glucosa normal y elevación de la concentración de proteínas ( patrón de Meningitis Viricas) en 15 (5%) predominaban leucocitos Polimorfonucleados y 6 ( 3%) tenía glucosa por debajo del rango de referencia y concentración de proteínas elevadas (Patrón de Meningitis bacteriana). En 9 muestras (3%) el recuento no fue concluyente.

Al laboratorio de Microbiología se remitieron 179 muestras un 64 % de las enviadas al LUR.

170 Presentaban cultivo estéril y 4 (2%) positivos (1 STREPTOCOCCUS PNEUMO, 2 HAEMOPHILUS INFLUENZA y 1 NEISSERIA MENINGITIDI).

## CONCLUSIONES:

El estudio de los LCR en el Laboratorio de Urgencias no puede determinar por si solo si nos encontramos ante un tipo de meningitis Bacteriana, Virica, tuberculosa ó alguna otra patología con afectación meníngea, pero si, supone una ayuda casi imprescindible para un primer diagnóstico y tratamiento precoz.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 055

## GAMMAPATIA MONOCLONAL DE SIGNIFICADO INCIERTO ASOCIADA A UN CASO DE INFECCIÓN POR CITOMEGALOVIRUS

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Prieto Sainz, Belén; Fuentes Rebollo, Carmen.

Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario y Hospital Río Hortega de Valladolid

Correo electrónico del primer firmante: belenprisa@yahoo.es

## Introducción:

La gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI) se define como la presencia de una concentración sérica de proteína M inferior a 3g/dl.

## Objetivo:

Seguimiento de la gammapatía debido al riesgo que presenta de transformación a enfermedades malignas de células plasmáticas.

## Material y métodos:

Mujer de 59 años que ante una posible sospecha de infección se solicita una analítica general con pruebas bioquímicas y hematológicas.

Se realiza hemograma, bioquímica y coagulación, proteinograma, inmunoglobulinas en suero, inmunología y otras pruebas complementarias.

## RESULTADOS:

Hemograma: leucocitosis leve con linfocitosis, serie roja y plaquetaria normales. VSG elevada.

Bioquímica y coagulación: elevación de transaminasas, LDH y ferritina. Resto de pruebas normales.

Proteinograma: en la electroforesis capilar se observa una gammapatía monoclonal identificada mediante inmunofijación como Ig M kappa e Ig M lambda.

Inmunoglobulinas en suero: IgG, IgA y IgM normales.

Inmunología: factor reumatoide negativo. Anticuerpos frente a citomegalovirus (Ig G negativa; Ig M positiva), anticuerpos frente a toxoplasma, Epstein Barr, hepatitis B y C y VIH negativos.

Otras pruebas complementarias: sin interés.

Con los datos anteriores, el paciente es diagnosticado de una infección en curso frente a citomegalovirus y la gammapatía monoclonal de significado incierto es secundaria al cuadro infeccioso.

Tras un período de tratamiento, el proteinograma se normalizó.

## CONCLUSIONES:

La gammopatía monoclonal de significado incierto puede estar asociada a enfermedades hematológicas, neurológicas, dermatológicas, pacientes inmunodeprimidos, enfermedades del tejido conectivo, enfermedades hepáticas y enfermedades infecciosas.

Clara asociación de la infección por citomegalovirus y la gammopatía monoclonal de significado incierto.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 067

## COMPARACION DE LOS METODOS ACMIA Y EMIT PARA LA DETERMINACION DE CICLOSPORINA Y TACROLIMUS. INFLUENCIA DEL HEMATOCRITO EN LA DETERMINACION DE TACROLIMUS.

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* del Dedo Torre, M. Angeles. Zamorano Hipolito, Esperanza. Recio Romero, M. Nieves. Ortega de Heredia, M. Dolores

*Centro de trabajo:* Hospital Clinico San Carlos

*Provincia:* Madrid

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

## INTRODUCCION:

La ciclosporina y el tacrolimus son poderosos agentes inmunosupresores que han mejorado considerablemente la supervivencia de pacientes con trasplantes de órganos. Dosis y niveles inadecuados de estos fármacos pueden dar lugar al rechazo del órgano trasplantado, mientras que niveles tóxicos están asociados a numerosos efectos secundarios. Por ello para garantizar la idoneidad del tratamiento inmunosupresor deben monitorizarse adecuadamente sus concentraciones en sangre. Actualmente en nuestro laboratorio la determinación de estos fármacos se realiza mediante el ensayo EMIT® 2000 (inmunoensayo enzimático homogéneo) que precisa un pretratamiento manual de la muestra.

## Objetivos:

Comparación de la técnica ACMIA (inmunoensayo magnético con anticuerpos conjugados) para la determinación de ciclosporina y tacrolimus en sangre total con la técnica EMIT® 2000 empleada en nuestro laboratorio y evaluar la posible influencia del hematocrito en la determinación del tacrolimus.

## MATERIAL Y METODOS:

se seleccionaron aleatoriamente 50 y 90 muestras de sangre de pacientes trasplantados para la medición de ciclosporina y tacrolimus respectivamente. Las determinaciones se realizaron en paralelo mediante los métodos EMIT® 2000 en un equipo Cobas Mira Plus y ACMIA en un equipo Dimension RxL Max. Los valores de hematocrito se determinaron en un equipo Beckman Coulter LH755.

La comparación entre ambos métodos se llevó a cabo mediante el análisis de regresión de Passing-Bablok y complementariamente mediante el coeficiente de correlación de Spearman y se realizaron los correspondientes gráficos de Bland-Altman.

La posible influencia del hematocrito en la determinación del tacrolimus se realizó agrupando los resultados de tacrolimus en dos grupos en función del hematocrito: Hto  $\leq$  35% (n=52) y Hto >35% (n= 38). En cada uno de estos grupos se realizó la comparación entre los niveles de tacrolimus por los métodos EMIT® 2000 y ACMIA utilizando el coeficiente de correlación de Spearman y se obtuvo la correlación entre las diferencias de las mediciones de tacrolimus por ambas técnicas y los valores del hematocrito.

## RESULTADOS:

En la comparación de los métodos EMIT® 2000 y ACMIA para la ciclosporina se obtuvo una recta de regresión con una pendiente de 1.0581 (IC 95%= 0.974 - 1.1871) y una ordenada en el origen de -5.8288 (IC 95%= -17.9928 0.7615). El coeficiente de correlación de Spearman fue de 0.945

(p< 0,01). En la comparación para el tacrolimus se obtuvo una recta de regresión con una pendiente de 1.3415 (IC 95%= 1.1897- 1.4615) y una ordenada en el origen de -0.0768 (IC 95%= -0.7500- 1.0078). El coeficiente de correlación de Spearman fue de 0.932 (p< 0,01).

El coeficiente de correlación de Spearman entre ambas técnicas obtenido para el grupo con Hto  $\leq$  35% fue de 0.943 (p<0.01) y para el grupo con Hto >35% fue de 0.907 (p<0.01).

El coeficiente de correlación de Spearman obtenido entre las diferencias de las mediciones de tacrolimus por ambas técnicas y los valores del hematocrito fue de -0.228 (p< 0.05).

## CONCLUSIONES:

En el caso de la ciclosporina la correlación entre ambos métodos es buena y no se observan diferencias. En el caso del tacrolimus, a pesar de que la correlación es buena, se observan diferencias de tipo proporcional entre ambos métodos.

No existe correlación entre los valores del hematocrito y las diferencias de las mediciones de tacrolimus por ambas técnicas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 068

## PTH INTRAOPERATORIA: PARADIGMA DE PRUEBA EN EL LUGAR DE ASISTENCIA AL PACIENTE (PLAP)

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* López Álvarez, María Ignacia; Rodríguez Arroyo, Miren Edurne; Constenla Caramés, Lucía; Rodríguez Arias, María Cruz; Álvarez García, Elías.

*Centro de trabajo:* CHUVI (Complejo Hospitalario Universitario de Vigo)

*Provincia:* Pontevedra

*Correo electrónico del primer firmante:* maria.ignacia.lopez.alvarez@sergas.es

## Introducción:

El hiperparatiroidismo (HPT) consiste en una producción excesiva de paratirina (PTH) por parte de las glándulas paratiroides. Éstas se hallan en el cuello, cerca o adheridas al lado posterior de la glándula tiroides, y controlan los niveles de calcio, magnesio y fósforo en sangre y hueso. El hiperparatiroidismo primario (HPTP) es una entidad caracterizada por aumento de la PTH sérica asociado habitualmente a hipercalcemia e hipercalcúria. La anatomía patológica revela un adenoma único o múltiple en el 85% de los casos e hiperplasia de las 4 paratiroides en el resto; el cáncer de paratiroides es muy infrecuente

## Objetivos:

Dar a conocer el protocolo de nuestra institución para la monitorización intraoperatoria de PTH y su utilidad en el tratamiento quirúrgico del HPTP.

## MATERIAL Y METODOS:

El protocolo para la monitorización intraoperatoria en nuestro hospital consiste en la extracción de plasma (sangre con EDTA) mediante punción venosa, preferentemente en el brazo contralateral al usado para la anestesia o extraídas directamente de la vena yugular a fin de evitar efectos dilucionales y posibles interferencias como la producida por el propofol. La cronología de extracción es la siguiente:

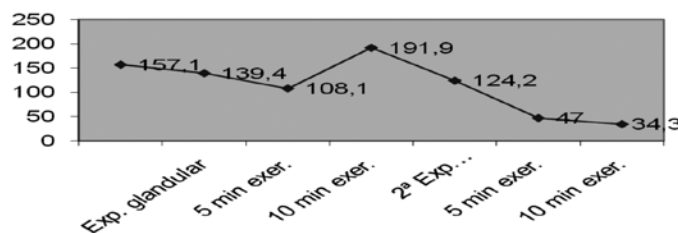
- inducción anestésica
- Exposición glandular
- 5 minutos post-exéresis
- 10 minutos post-exéresis

El criterio más ampliamente aceptado para considerar la resección exitosa del tejido paratiroideo hiperfuncionante, es el de la reducción de los niveles de PTH intacta, al menos en un 50% a los 10 minutos de la exéresis respecto a la concentración más alta, en la inducción anestésica o la exposición glandular.

La medición de PTH se realizó con un inmunoanálisis quimioluminiscente inmunométrico modificado (Advantage® Intact PTH, Nichols).

## RESULTADOS:

Presentamos el caso de una mujer de 70 años de edad que es intervenida por diagnóstico de HPTP. Presentaba imagen sugestiva de adenoma en la glándula paratiroidea superior izquierda (gammagrafía con Tc-sestamibi). En el acto quirúrgico, tras la exéresis de dicha glándula no se objetivó un descenso suficiente de la PTH plasmática (108.1), lo que indicaba la presencia de más tejido hiperfuncionante, obligando al cirujano a seguir la exploración. Se halló un segundo adenoma en la glándula inferior izquierda. Tras su exéresis se objetivó el descenso esperado de PTH, dando por concluida la intervención. La monitorización con PTH motivó la exploración del lado derecho, evitando la necesidad de una reintervención.



## CONCLUSIÓN:

La monitorización intraoperatoria de la concentración de PTH durante la cirugía del HPTP sirve para diferenciar entre enfermedad uni o multiglandular, y representa un inmejorable ejemplo de cómo la rápida entrega de unos resultados analíticos, puede proveer información clínica a la hora de decidir el óptimo tratamiento del paciente.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 070

## DETECCION DE POSIBLES DESEQUILIBRIOS ELECTROLITICOS MEDIANTE EL ESTUDIO DE LA OSMOLALIDAD, LA UREA Y EL SODIO.

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* NANCY MENDEZ MARTINEZ, MARIA CONTRERAS ALOMAR, JUANA CANTALLOPS CLADERA, MARIA DEL PILAR ORDOÑEZ SANCHEZ, CATALINA RIERA PASCUAL, FRANCISCA FRAU FRANCO.

*Centro de trabajo:* Fundación Hospital de Manacor (Laboratorio Análisis Clínicos)

### Objetivos:

La osmolalidad es la medida usada por farmacéuticos y médicos para expresar la concentración total de sustancias en disoluciones usadas en medicina.

La osmolalidad plasmática se mantiene constante en condiciones normales a pesar de la ingesta y eliminación de agua. Esto ocurre gracias a la redistribución de agua en los distintos compartimentos del organismo y al balance externo de la misma.

El objetivo del trabajo es detectar posibles desequilibrios electrolíticos a través del estudio de tres parámetros:

La osmolalidad plasmática y urinaria.

La urea en suero.

El sodio en suero.

### Material y métodos:

Se determinan la osmolalidad en muestras de suero y orina con el analizador Advanced, modelo 3000 (ADVANCED INSTRUMENTS, INC). Se trata de un osmómetro que tiene como base la reducción del punto de congelación para medir la osmolalidad de las muestras. El punto de congelación es la temperatura a la cual las fases líquida y sólida de una sustancia permanecen unidas.

Para la realización de la prueba son necesarios: limpiador de cámara, pipeta de muestras y muestras (suero y/o orina), controles Liquicheck y calibradores.

Además se evalúan aquellas muestras a las que se les solicita simultáneamente (además de la osmolalidad), la detección de urea y/o sodio en suero. Ambas técnicas se realizan por un procesador de muestras de química seca (Vitros 5,1 FS Chemistry).

### RESULTADOS:

En el laboratorio de urgencias del Hospital de Manacor se hace un estudio de todas aquellas peticiones a las que se les solicitan las técnicas de osmolalidad plasmática y urinaria (179) desde 01/01/2009 hasta el 31/12/2009.

Muestras a las que se les solicita osmolalidad en suero, osmolalidad en orina y sodio y/o urea en suero: 97. Peticiones a las que se les solicita osmolalidad en plasma y orina de forma simultánea: 34 muestras.

Debido a que la osmolalidad plasmática y urinaria no son pruebas diagnósticas por sí solas (pueden indicar una alteración del balance pero no su causa), se usan junto con la clínica y otras pruebas de laboratorio como son, el sodio y la urea.

Del total de muestras procesadas se encuentran resultados anormales de osmolalidad plasmática y urinaria, urea y sodio en suero al mismo paciente en 9 casos.

De estos 9 casos es importante destacar que siete de ellos pertenecen al sexo masculino con edades comprendidas entre los 60 y los 80 años y los dos casos restantes son mujeres que cuya edad se encuentra en el rango antes mencionado.

Por grupo de edades: >5=34(19%), 6-20=43(24%), 21-40=7(4%), 41-60=20(11%), 61-80=49(28%), >80=26(14%).

Por sexos: masculino 98 pacientes (54,74) y femenino 81 pacientes (45,25).

### CONCLUSIONES:

En los 34 casos estudiados en profundidad, se ha confirmado en todos ellos que a estos pacientes se les ha solicitado la osmolalidad plasmática por presentar síntomas como: sed, confusión, náuseas, cefalea y se sospecha que éstos puedan ser debidos a una posible hiponatremia.

De éstos, en nueve casos se confirma el diagnóstico de un posible desequilibrio electrolítico una vez realizadas (además de la osmolalidad plasmática y urinaria) las pruebas complementarias de sodio y urea en suero.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 078

### EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DEL REACTIVO DE CITRATO EN EL ANALIZADOR MODULAR PP DE ROCHE®

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Solorzano Obispo, María Jesus; Caballero Monge, Anunciación; Gago Gómez, María Victoria; Ajuria Morentin, Iratxe; Pascual Usandizaga, Pilar; Mar Medina, Carmen

Centro de trabajo: Hospital Galdakao-Usansolo

Correo electrónico del primer firmante: mjesus.solorzanoobispo@osakidetza.net

### Introducción:

La finalidad del examen bioquímico en el plasma seminal es la determinación de la funcionalidad de los órganos relacionados con la producción de esperma. El citrato es el anión principal producido por la próstata y está presente en el plasma seminal, desempeñando un papel fundamental como quelante de iones. La medición de su concentración en plasma seminal se utiliza como marcador determinante de la función secretora de la glándula prostática. Valores bajos indican una alteración anómala de la función secretora de la glándula, posiblemente como consecuencia de la obstrucción de los conductos debido a una inflamación de carácter agudo o crónico.

Además, El ácido cítrico en orina es un inhibidor del proceso de cristalización de los cálculos urinarios. La disminución de ácido cítrico se asocia a un riesgo superior de urolitiasis cálcica, por lo que se cuantifica en la evaluación inicial del paciente con urolitiasis. La

excreción de citrato se encuentra aumentada en el hiperparatiroidismo y disminuida en la acidosis tubular renal.

Dado que es un parámetro de uso no muy extendido, los reactivos habitualmente disponibles en el mercado son kits manuales cuyas metodologías se adaptan a distintos autoanalizadores.

### Objetivos:

Estudiar la estabilidad de un nuevo reactivo de medición de citrato en orina y plasma seminal en el autoanalizador Modular PP, para establecer su practicabilidad en la rutina de nuestro laboratorio.

### Material y métodos:

Se reconstituyeron los reactivos según instrucciones del fabricante. El análisis se llevó a cabo mediante método espectrofotométrico ultravioleta (Biosystem) adaptado al analizador Modular PP Roche®.

Tras calibración de la técnica, se analizó una alícuota del control de calidad valorado en 100 mg/dL a lo largo de 40 días.

Se calculó la media y desviación estándar (DS) de las mediciones realizadas durante los 10 primeros días. Se consideró que el reactivo perdía su estabilidad cuando el resultado estaba fuera del rango de la media  $\pm 2$  DS.

### RESULTADOS:

La media y DS de las mediciones fueron 100,5 mg/dL y 2,55, respectivamente. Las mediciones se mantuvieron en dicho intervalo durante 22 días. A partir del día 23 el valor obtenido fue de 114 mg/dL.

### CONCLUSIONES:

Tras analizar los resultados obtenidos de la concentración frente al tiempo se observó una clara tendencia al alza pasado exactamente el mes de análisis, por lo que hubo que desechar el reactivo.

Quedando demostrada la estabilidad que tiene el reactivo actual, se ha sustituido por el que veníamos utilizando hasta ahora, analizando las muestras frescas el mismo día de su obtención.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 091

### IMPRECISIÓN EN LA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA PLASMÁTICA ASOCIADA AL EMBARAZO (PAPP-A) Y LA FRACCIÓN BETA LIBRE DE LA GONADOTROPINA CORIÓNICA HUMANA (BHCG-L) EN UN ANALIZADOR IMMULITE 2000 (SIEMENS) Y SU REPERCUSIÓN EN EL CÁLCULO DE RIESGO PRENATAL DE TRISOMÍA 21.

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: GOMEZ CAMACHO SIERRA. PARDO PEÑA ANA. CONDE PACHECO MANUELA. VICTOR MILLAN ANA. PERAL CAMACHO IGNACIO.

Centro de trabajo: UGC LABORATORIO CLINICO. HOSPITAL DE VALME. SEVILLA

Correo electrónico del primer firmante: sierra.zuheros@gmail.com

### Introducción:

En el Área Hospitalaria de Valme se realiza un cribado prenatal de cromosomopatías para las trisomías 18 y 21 desde el año 2005 en el que se emplean marcadores bioquímicos y ecográficos agrupados mediante un cribado combinado de primer trimestre. Entre las 8-13 semanas de gestación, se determinan la proteína plasmática asociada al embarazo (PAPP-A) y la fracción beta libre de la gonadotropina coriónica humana (BHCG-L). Como dato ecográfico se utiliza la translucencia nucal (NT) que se mide entre las semanas 10 y 14 de gestación.

### Objetivos:

Conocer la imprecisión analítica de nuestro método. Estimar la repercusión de la misma sobre el cálculo de riesgo prenatal de cromosomopatías.

### Material y método:

Se han realizado 6 pools con sueros de gestantes teniendo en cuenta los valores obtenidos en la analítica realizada para nuestro programa de cribado y registrados en el sistema informático del laboratorio (Omega 3000 - Roche diagnostics), clasificándolos en 3 niveles para BHCG-L y 3 para PAPP-A. Dichos niveles cubren todo el rango de decisión clínica. Una vez valorados se ha procedido a su alícuotado en tubos de polietileno y congelado a 20° C. La medición se ha realizado en un IMMULITE 2000 (Siemens) mediante un inmunoensayo quimioluminiscente. La imprecisión se expresa como coeficiente de variación para cada una de las magnitudes y niveles, obtenida en un intraensayo con 20 replicas en un mismo ensayo y un interensayo mediante 20 replicas realizadas en 20 días consecutivos.

### RESULTADOS:

- Imprecisión expresada como Coeficiente de Variación (%)

PAPP-A

Intraensayo Nivel 1: 3.85%; Nivel 2: 3.29%; Nivel 3: 4.89%

Interensayo Nivel 1: 4.67%; Nivel 2: 5.57%; Nivel 3: 6.62%

BHCG-L

Intraensayo Nivel : 2.50%; Nivel 2: 3.20%; Nivel 3: 2.47 %

Interensayo Nivel : 5.33%; Nivel 2: 6.49%; Nivel 3: 6.75%

- Repercusión de la imprecisión analítica sobre el cálculo de riesgo para Trisomía 21: considerando una gestación estándar (mujer 25 años, 60 Kg., gestación no múltiple,

caucasiana, no fumadora, no diabética, no fecundación in vitro, con ecografía realizada en semana 12 que presenta CRL 45 mm y TN 1.5 mm y analítica efectuada en semana 10 con unos valores de las magnitudes bioquímicas cercanos a sus respectivos puntos de corte (BHCG-L: 100 U/ml; PAPP-A: 0,45 ng/ml) y aplicando la imprecisión máxima obtenida para cada magnitud (7% PAPP-A y 6% BHCG), los resultados en el cálculo del riesgo serían:

Riesgo en condiciones ideales (imprecisión 0)	1/402
Riesgo aplicando imprecisión obtenida en PAPP-A	1/315
Riesgo aplicando imprecisión obtenida en BGCH-L	1/341
Riesgo aplicando imprecisión ambas magnitudes:	1/267

#### CONCLUSIONES:

- Las imprecisiones obtenidas para cada magnitud son comparables a las señaladas por el fabricante para concentraciones similares a las utilizadas en nuestro estudio.
- Los valores de la imprecisión son similares a los indicados en las especificaciones de calidad (imprecisión máxima 5% - 6%) que recomiendan los programas de Control de Calidad (UK-NQAS) con objeto de minimizar el impacto de dicha imprecisión sobre el cálculo de riesgo.
- A pesar de esto podemos observar que cuando estamos en concentraciones cercanas a los valores de corte la repercusión sobre el cálculo de riesgo puede ser decisiva un riesgo negativo (1/ 402) se puede convertir en positivo (1/267) (Punto de Corte para el Riesgo 1/270)
- Consideramos que un objetivo de calidad debe ser por tanto reducir al máximo la imprecisión para minimizar su repercusión sobre el cálculo de riesgo.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 095

### MEJORA DE LOS TIEMPOS DE RESPUESTA EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS DEBIDO A LA IMPLANTACIÓN Y SEGUIMIENTO DE UN SISTEMA DE CONTROL

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Montserrat Pérez Martínez, Yolanda Luceño Castilla, Susana Parejo Vico, María Jesús Sancho Vilellas

Centro de trabajo: Laboratorio Clínico ICS Camp de Tarragona

Correo electrónico del primer firmante: tac1962@telefonica.net:

#### Introducción:

Durante el año 2009 en el laboratorio de urgencias se hizo un seguimiento del porcentaje de validaciones que superaban los tiempos máximos establecidos para el análisis y validación de las muestras. Estos resultados han servido para la realización de acciones correctoras en la mejora de la eficiencia del laboratorio. Los datos obtenidos del año 2010 nos permiten la evaluación de estas medidas y comprobar la correcta aplicación por parte del personal.

#### Objetivo:

El objetivo es el seguimiento y análisis de los tiempos de respuesta, para la reducción del porcentaje de validaciones que superan los tiempos máximos de análisis establecidos en el laboratorio de urgencias.

#### Material y métodos:

Con los datos obtenidos del programa informático Synergy podemos controlar los tiempos de respuesta y evaluar la eficacia de las acciones correctoras, que fueron: reuniones periódicas del personal de urgencias, actualización de los procedimientos normalizados de trabajo (PNT S), establecer nuevos circuitos en el procesamiento de las muestras (tiempos de analíticas), mejoras en la automatización y mejoras informáticas

#### RESULTADOS:

En cuanto a la evolución por meses de las pruebas realizadas fuera de plazo en el laboratorio de urgencias se observa una disminución en el año 2010 respecto al año anterior en todos los meses excepto en los 2 últimos, siendo en media de un 5% de peticiones.

En cuanto a las pruebas con mayor peso específico realizadas en el laboratorio de urgencias, destacan la Interleukina-6, Digoxina y Fenitoína que disminuyeron en media un 15% en el porcentaje de fuera de plazo en el año 2010 respecto al 2009.

Se adjuntará gráfica con los porcentajes fuera de plazo por meses del año 2009 y 2010.

Se adjuntará gráfica con los porcentajes fuera de plazo de las pruebas con mayor peso específico realizadas en el laboratorio de urgencias durante el 2009 y 2010.

#### CONCLUSIÓN:

Como se observa en los datos obtenidos, la aplicación de las acciones correctoras, así como de los nuevos métodos y procesos analíticos por parte del personal, ha permitido una reducción general en los tiempos de respuesta en un 28,67%.

El perfil de Bioquímica y el Hemograma, las dos pruebas en importancia por número de validaciones, mejoran un 37,32 y 12,53% respectivamente.

La implantación de las medidas correctoras ha permitido reducir de forma significativa el porcentaje de solicitudes fuera de plazo en el año 2010.

No obstante, para la mejora continua de la calidad es necesario un constante seguimiento y aplicación de medidas correctoras.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 109

### COMPARACION DE 2 METODOS PARA CUANTIFICACION DE METANEFRINAS Y NORMETANEFRINAS EN ORINA

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Hernández, Angela; Romeral, Mª Dolores; Bonilla, Isabel; Montes, Inés

Centro de trabajo: UGC de Análisis Clínicos. Hospital Clínico San Carlos. Madrid

Provincia:

Correo electrónico del primer firmante: angelahs48@gmail.com

#### RESUMEN:

COMPARACION ENTRE 2 METODOS DE CUANTIFICACIÓN DE METANEFRINAS Y NORMETANEFRINAS EN ORINA.

#### Introducción:

Metanefrina y Normetanefrina son metabolitos de las catecolaminas originados por acción del enzima COMT (catecol-O-metiltransferasa). Su determinación en orina se considera la prueba de cribado recomendada para el Diagnóstico de Feocromocitoma ya que son producidas de forma continua y en niveles constantes a partir del metabolismo de las catecolaminas dentro de las células tumorales, en contraste con la producción episódica de catecolaminas.

#### Objetivo:

Comparación de 2 metodologías (Enzimoinmunoanálisis y HPLC) para la determinación de Metanefrinas Fraccionadas en orina.

#### Material y métodos:

Se analizaron 75 orinas de primera muestra recogidas con HCl 6N como acidificante tras mantener una dieta de 3 días libre de alimentos que pueden causar interferencias.

#### Métodos:

1. Enzimoinmunoensayo (EIA) competitivo en microplaca de DRG @Diagnostics: Metanefrina y Normetanefrina de la muestra son previamente aciladas a sus correspondientes N-acyl derivados. Las meta/normeta aciladas de la muestra y las unidas a la fase sólida, compiten por un nº fijo de sitios de unión al antisuero. Los antígenos libres, y los libres unidos al antisuero son eliminados por lavado. El anticuerpo unido a la metanefrina fijada en fase sólida se detecta mediante un complejo Anti IgG de conejo-peroxidasa, usando TMB (tetrametilbencidina) como sustrato. La reacción se monitoriza a 450 nm

2. Cromatografía en fase reversa con Detección electroquímica: Determinación de metanefrinas fraccionadas mediante técnica de Bio Rad @Diagnostics. La orina acidificada con ClH es hidrolizada a 100°C durante 30 min. Las sustancias interferentes son eliminadas mediante el paso de la muestra 1º por una columna de intercambio catiónico y posteriormente por una de intercambio aniónico. El eluato obtenido se inyecta en un sistema isocrático de HPLC con detector Electroquímico.

#### RESULTADOS:

Imprecisión Interensayo Metanefrinas :			Imprecisión Interensayo Normetanefrinas	
HPLC	Media ug/L	C.V %	Media ug/L	C.V %
	83,6	7,9	296	8,9
	539	7,6	1342	8,2
EIA	101	10,2	256	8,9
	300	8,74	760	13,7

Comparación de muestras

Metanefrinas Orina EIA:	Metanefrinas Orina HPLC:	
Media = 68, 08 ug/L	Media = 69,25 ug/L	p = 0,48
D.S = 35, 01	D.S = 47	

Normetanefrinas Orina EIA:	Normetanefrinas Orina HPLC:	
Media = 260,6 ug/L	Media = 209,3	p < 0,01
D.S = 191	D.S = 149	

Estudios de Correlación y Regresión Lineal:

Metanefrinas:	r = 0,58	y = 0,78 x + 14,92
Normetanefrinas:	r = 0.939	y = 0,702 x + 24,43

#### CONCLUSIONES:

Los estudios de imprecisión muestran resultados similares entre ambas metodologías.

La cuantificación de metanefrinas en orina mediante HPLC o EIA no presenta diferencias significativas, pero si se observan en la cuantificación de Normetanefrinas obteniéndose valores más altos por EIA.

Aunque el método recomendado para la determinación de metanefrinas fraccionadas en orina es el HPLC con detección EQ, los resultados obtenidos muestran que el EIA puede ser una opción para aquellos laboratorios que no dispongan de cromatografía.

## UTILIDAD DEL PARÁMETRO DE LA PROCALCITONINA EN ENFERMOS CON RIESGO DE SEPSIS EN MUESTRAS RECIBIDAS EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS DE ZAMORA

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* Carmen San Juan; Teresa Morillo; Cándida Calleja; Estrella Fernández; Mercedes González; Nieves Saiz

*Centro de trabajo:* Hospital Virgen de la Concha (Complejo Asistencial de Zamora)

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

### Introducción:

La sepsis es un problema diagnóstico en el que la agilidad de respuesta mejora el pronóstico. Para diagnosticar y predecir el agravamiento de las infecciones se pueden utilizar marcadores biológicos como la Proteína C Reactiva, el recuento diferencial Leucocitario o la IL-6 y más recientemente la Procalcitonina (PCT) ya que se incrementa horas antes que los indicadores de infección anteriormente mencionados, y es más específica para diagnóstico de infección bacteriana.

La PCT es una macromolécula glucoproteica de 116 aa y tiene un p.m. de 113 Kda. Es la prohormona de la Calcitonina y se sintetiza en condiciones normales en las células C de la glándula tiroides y en células neuroendocrinas del pulmón, pero en situaciones de sepsis se sintetiza también en el bazo, hígado, testículos, grasa o cerebro, por lo que sus niveles en sangre aumentan. La PCT es inducida por endotoxinas bacterianas y citoquinas para convertirse después, por la acción de enzimas proteolíticas en la hormona activa.

Su semivida es de 24 horas, lo que la convierte en un buen marcador de la evolución de la enfermedad, ya que si el tratamiento es efectivo, su concentración disminuye aproximadamente un 50% cada 24 horas.

En los individuos sanos, su concentración es prácticamente indetectable, no se modifica en las infecciones víricas, se eleva moderadamente en las infecciones bacterianas (neumonía o pielonefritis), y se eleva intensamente en las infecciones bacterianas graves (sepsis, shock séptico y meningitis).

### Objetivo:

Valorar la utilidad del uso de la PCT en pacientes con sospecha de sepsis. El punto de corte que se ha utilizado para el diagnóstico de sepsis es  $> 2$  ng/mL.

### Material y métodos:

Se realiza el estudio de 144 pacientes, en muestras de plasma recibidas en el laboratorio de Bioquímica de Urgencias, procedentes de distintos servicios (urgencias, neonatos, lactantes, medicina interna etc.) durante un periodo de 7 meses (mayo 2010-enero 2011). El estudio incluye 75 hombres (52,1%) y 69 mujeres (47,9%), con edades comprendidas entre 1 día de vida y 93 años.

De las muestras estudiadas, se sospechaba de cuatro patologías: SRIS (Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica) 37 pacientes, Sepsis/Shock 46 pacientes, Infección bacteriana (Pielonefritis, Pankreatitis, Neumonía) 20 pacientes, Lactantes con fiebre sin foco 29 pacientes, y 12 muestras en las que no se informaba de la sospecha diagnóstica. La PCT se determinó cuantitativamente en plasma humano mediante un test inmunológico in vitro que es una técnica tipo sándwich, con una duración total de 18 minutos, utilizando un autoanalizador Elecsys (Roche) que emplea tecnología de Electroquimioluminiscencia ECLIA.

### RESULTADOS:

De las muestras estudiadas se observó 83 pacientes con una concentración de PCT  $< 0.5$  ng/ml sugerentes de infecciones víricas, del Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SRIS), de Infecciones bacterianas no graves y de los casos de Fiebre sin foco en lactantes. Las muestras con niveles de PCT  $> 2$  ng/ml se observaron en 25 pacientes, de las cuales el mayor número corresponde con casos de sepsis. Puesto que el riesgo de sepsis es probable se recomienda realizar determinaciones seriadas de PCT.

Niveles entre 0,5 y 2 ng/mL de PCT (zona gris) se observaron en 24 pacientes, en estos casos se recomienda repetir a las 24 horas para confirmar o descartar sepsis.

El Riesgo de sepsis severa es superior en los hombres que en las mujeres. En el resto de supuestos diagnósticos, es prácticamente la misma proporción de riesgo entre varones y mujeres.

### CONCLUSIONES:

La determinación de la PCT es rápida, no tiene un elevado coste y muestra una buena sensibilidad y especificidad para el diagnóstico y seguimiento de la infección bacteriana grave (sepsis, shock séptico), lo que la convierte en un buen marcador para el diagnóstico, pronóstico y seguimiento de pacientes con sospecha de sepsis.

## VALORES DE REFERENCIA DE CALCIO Y MAGNESIO EN LÍQUIDOS ORGÁNICOS

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* PINA ECHEVARRIA MARIA JOSE / CIRIA TORCAL ANA MARIA / PINA ECHEVARRIA SILVIA ELENA

*Centro de trabajo:* H.U. MIGUEL SERVET . ZARAGOZA

*Correo electrónico del primer firmante:* mariajose20diego@yahoo.es

### Introducción:

En patología hospitalaria (muy variada) surge la necesidad de analizar la composición y características de muestras de líquidos orgánicos, en las que son importantes algunos parámetros, por su funcionalidad intra y extracelular y por su utilización en diversos tratamientos (En cirugía cardiovascular se administra sulfato de mg y en el derrame pleural neoplásico se utiliza talco -silicato de mg-).

### Objetivo:

Estudiar los niveles de Ca y Mg en las muestras de líquidos orgánicos recibidas a diario en nuestro laboratorio y correspondientes a pacientes ingresados.

### Material y métodos:

Se determinaron Ca y Mg en 106 líquidos orgánicos: Ascíticos, LCR, Pleurales, Sinoviales y Drenajes, de diferente procedencia Hospitalaria, (62 varones y 44 mujeres con edades comprendidas desde los 4 días de vida a los 93 años). Para el Mg se utilizó un método de punto final a tiempo fijo, reacción de combinación del Mg con calgamita formando un cromógeno estable. (SYNCHRON SYSTEM) El Ca se determinó (Sistema SYNCHRON®) por potenciometría indirecta utilizando un electrodo selectivo de iones calcio con electrodo de referencia de sodio.

### RESULTADOS:

Las medianas de Ca (mg/dL) van de mayor a menor en este orden: L. pleurales (7,45) > ascíticos (6,18) > LCR (5,0). Las medianas para el Mg (mg/dL) no siguen ese orden siendo la menor la correspondiente a L. Ascítico (1,55), y la mayor la del LCR (2,74). Los rangos estadísticos no coinciden con los valores de referencia séricos.

### CONCLUSIONES:

1. Las muestras procedían principalmente de Pediatría (LCR) y nefrología (Ascíticos).
2. Por el escaso número muestral de Líquidos sinoviales y de Drenaje consideramos oportuno seguir esta línea de determinaciones con un mayor número de muestras, para obtener resultados más fiables.
3. Respecto a la edad de los pacientes estudiados observamos un rango más amplio en los LCR por la frecuencia de la patología neonatal. Asimismo, la morbilidad de la población anciana hace que sea más frecuente el estudio del líquido pleural en los últimos años de vida.

## SUSTITUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE BICARBONATO EN SANGRE TOTAL POR LA CONCENTRACIÓN DE CO<sub>2</sub> TOTAL EN SUERO. COMPARACIÓN DE AMBOS MÉTODOS Y UTILIDAD CLÍNICA EN EL SEGUIMIENTO DE PACIENTES DIALIZADOS.

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* Margarita Pérez Riedweg, Isabel Falcón Panella, Francesc Maduell, José Alcaraz, Naira Rico Santana.

*Centro de trabajo:* Laboratorio Core, Bioquímica. Hospital Clínic

*Provincia:* Barcelona

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

### Introducción:

Como resultado de la reducida capacidad por parte del riñón de sintetizar amoníaco y excretar hidrogeniones, los pacientes que padecen una nefropatía crónica presentan acidosis metabólica. Uno de los objetivos de la hemodiálisis es la corrección de la acidosis metabólica utilizando un buffer de bicarbonato incorporado al baño de diálisis.

Para valorar la acidosis metabólica de los pacientes dializados en nuestro hospital, se extrae una jeringa de gases pre-diálisis y se realiza la medición de bicarbonato. Estas gasometrías deben ser enviadas al laboratorio y analizadas en el menor tiempo posible (menos de 20 minutos desde la extracción). Siendo este un factor limitante.

### Objetivos:

En colaboración con el Servicio de Nefrología de nuestro hospital, decidimos valorar la posibilidad de sustituir la medición de bicarbonato por la medición de CO<sub>2</sub> total sérico utilizando el mismo tubo de suero que se usa para el análisis de la bioquímica general, evitando de esta manera tener que obtener y analizar una jeringa de gases.

Valorar la utilidad clínica del CO<sub>2</sub> total sérico en el seguimiento de la corrección de la acidosis metabólica en pacientes dializados, realizando determinaciones pre y postdiálisis.

### Material y métodos:

Muestras: a 66 pacientes que acudieron a la unidad de hemodiálisis de nuestro hospital para recibir el tratamiento, se les extrajo simultáneamente, entre otras muestras pre-diálisis, una jeringa de gases para la realización de la medición de bicarbonato y una muestra de suero con gel separador para la determinación de CO<sub>2</sub> total. Tras la diálisis se obtuvo otra muestra de suero para la determinación de CO<sub>2</sub> total postdiálisis.

Las jeringas de gases fueron enviadas al laboratorio de urgencias y analizadas inmediatamente.



Los tubos de suero fueron enviados al laboratorio de actividad programada siguiendo un circuito especial definido desde preanalítica para poder controlar el destapado de las muestras.

#### Métodos:

La medición del bicarbonato se realizó en sangre venosa analizada por el gasómetro Rapidlab 800 de Siemens Diagnostics ®. El CO<sub>2</sub> total sérico se analizó en el ADVIA 1800 de Siemens Diagnostics ® utilizando un método enzimático.

Baño de diálisis: en todos los pacientes se utilizó como buffer bicarbonato a una concentración de 34 mEq/L.

Los resultados de CO<sub>2</sub> total pre y postdiálisis fueron evaluados durante 2 meses por el servicio de nefrología. Durante este tiempo se siguió realizando la gasometría pre-diálisis para poder comparar los valores de CO<sub>2</sub> basales con la concentración de bicarbonato.

#### RESULTADOS:

Los resultados pre-diálisis del cálculo de bicarbonato y concentración de CO<sub>2</sub> total fueron comparados mediante el método de Passing-Bablok obteniendo la ecuación:

$$Y=0,909(0,698 - 1,143)*X + 4,75(-0,78 - 9,83), r=0,730.$$

Los resultados de CO<sub>2</sub> total pre y postdiálisis reflejaron la corrección de la acidosis metabólica de estos pacientes.

#### CONCLUSIONES:

La comparación de los resultados del cálculo de bicarbonato y la concentración de CO<sub>2</sub> total sérico muestra que no existe error sistemático constante ni proporcional, pero la correlación de ambos métodos no es del todo satisfactoria tal como indica la  $r=0,730$ .

Los resultados de CO<sub>2</sub> total sérico pre y postdiálisis sirven para el seguimiento de la corrección de la acidosis metabólica en pacientes dializados.

Por tanto, en nuestro hospital para el seguimiento de la corrección de acidosis metabólica en pacientes dializados se utilizará la determinación de CO<sub>2</sub> total sérico evitando la utilización de una jeringa de gases. Pero ante la sospecha de un desequilibrio ácido-base de cualquier paciente, se seguirá usando la jeringa de gases para la medición de la concentración de bicarbonato.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 127

### DETECCIÓN DE PROTEÍNA DE BENCE JONES POR ELECTROFORESIS CAPILAR

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* OLGA ARES VIDAL, ERNESTINA SÁNCHEZ RODRIGUEZ, VICTORIA MONTERO CABALLERO

*Centro de trabajo:* SERVICIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS. HOSPITAL CLÍNICO SAN CARLOS

*Provincia:* MADRID

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

#### Introducción:

El estudio de la proteína Bence Jones (PBJ) se utiliza para el diagnóstico y seguimiento de las gammopatías monoclonales. Para su análisis se recomienda utilizar métodos capaces de detectar concentraciones de 10 mg/L, siendo la inmunofijación el método de elección. La electroforesis capilar es un método ampliamente utilizado en la detección de componentes monoclonales en suero debido a su rapidez, automatización y alta sensibilidad, si bien su aplicación en el análisis de orina está menos extendida debido a la presencia en la muestra de sustancias interferentes que absorben en la región ultravioleta.

El objetivo del trabajo es evaluar un método para la detección de proteína de Bence Jones mediante diálisis de la muestra de orina y análisis por electroforesis capilar.

#### Material y métodos:

Se analizaron 74 orinas de 24 horas, pertenecientes a pacientes con gammopatía monoclonal en las que se había solicitado el estudio de PBJ por los siguientes métodos: 1-Electroforesis de alta resolución en gel de agarosa (Sebia). Las muestras se concentraron previamente 10 veces cuando la concentración de proteína era inferior a 15 mg/dL.

2-Electroforesis capilar (Capillarys, Sebia). Las muestras se dializaron antes de su análisis (Amicon ultra-4 Millipore, Tampón diálisis Sebia).

3- Inmunofijación (Sebia). Las muestras se procesaron sin concentrar.

Las proteínas totales de las muestras se analizaron en un AU 2700 (Beckman Coulter)

Para obtener la imprecisión se utilizaron dos muestras de orina con PBJ, en cada uno de los análisis se procedió a la diálisis de la muestra. Para estimar la imprecisión inter día se analizó una muestra durante 13 días diferentes. Para la imprecisión intradía se analizó una muestra 10 veces el mismo día.

El límite de detección se determinó utilizando diluciones de 4 muestras con PBJ (2 kappa, 2 lambda) de alta concentración con una muestra de orina negativa. Se estimó integrando el área bajo la curva del pico monoclonal. Las concentraciones de las muestras diluidas se encontraban en un rango de 1-100 mg/L. Se cuantificaron las concentraciones de cadenas ligeras libres en las diluciones por inmunonefelometría (Image, Beckman Coulter, reactivo New Scientific).

#### RESULTADOS:

La electroforesis capilar presentó una sensibilidad del 98% y una especificidad del 76%. En la electroforesis de alta resolución en gel de agarosa se obtuvo una sensibilidad del 65% y una especificidad del 96%.

La imprecisión obtenida para la PBJ fue del 0,82% para la inter día y del 0,66% para la intradía. Para la fracción de albúmina la imprecisión fue del 1,52% y del 1,44% respectivamente.

El límite de detección obtenido para kappa fue de 3 mg/L, para lambda de 1 mg/L.

#### CONCLUSIONES:

La electroforesis capilar presentó una alta sensibilidad para la detección de PBJ.

La imprecisión obtenida para la cuantificación de la PBJ fue inferior al 1%.

El límite de detección hallado para los dos tipos de cadenas ligeras fue inferior al recomendado.

El método evaluado es útil para la detección de proteína de Bence Jones dado su automatización, alta sensibilidad y reproducibilidad.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 136

### ESTUDIO Y OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES PREANALÍTICAS Y DE CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA HEMOGLOBINA GLICOSILADA.

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* INÉS GONZÁLEZ BARRETO, MONTSERRAT MARTÍN JEREZ, M<sup>o</sup> JOSE PADILLA GONZÁLEZ, MILAGROS GONZÁLEZ DÉNIZ

*Centro de trabajo:* HOPSPITAL UNIVERSITARIO DE CANARIAS

*Provincia:* TENERIFE

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

#### Introducción:

La hemoglobina glicosilada es un parámetro de gran importancia en el control glucémico de los pacientes diabéticos, que incluso hoy en día se empieza a incorporar en el diagnóstico de los mismos, este parámetro cada día adquiere más importancia en investigaciones relacionadas con las complicaciones a largo plazo de la diabetes. Por este motivo, consideramos evaluar la forma de conservación más óptima de las muestras para la determinación de la HbA1c.

#### Objetivo:

El objetivo de este estudio fue evaluar la forma de conservación más adecuada de las muestras para la determinación de HbA1c. Estableciendo el tubo de muestras y la temperatura a la que se deben conservar, así como el tiempo que se mantiene estable.

#### Material y métodos:

El estudio se realizó con 62 pacientes, de cada uno de ellos se obtuvieron dos muestras, un tubo de K2 EDTA y un tubo de Oxalato de potasio y Fluoruro sódico (FX). A continuación a cada muestra se le determinó la HbA1c por HPLC de intercambio catiónico. Posteriormente, se separaron del tubo de K2 EDTA y del de FX 3 alícuotas: una se conservó refrigerada a 4° C, para su posterior análisis en los días 1, 2, 9, 17 y 27. Otra se dividió en dos para ser congelada a -80° C y analizada tras 7 días y tras 30 días de congelación. Y a la última alícuota se le realizó un procedimiento de lavado de hematíes y del hemolizado resultante se separaron dos alícuotas, que se congelaron a -80° C para ser posteriormente analizadas a los 7 días tras congelación y a los 30 días.

#### RESULTADOS:

Estudiamos la evolución de las diferentes medias de HbA1c en el tiempo, tomando como referencia la determinación de HbA1c el día de la extracción en el tubo de K2 EDTA. Los resultados fueron los siguientes: HbA1c analizadas en el tubo de K2 EDTA refrigerado (día0: 6,4276; día1: 6,4052; día2: 6,4121; día10: 6,3414; día17: 6,2172; día27: 6,1741); HbA1c analizadas en el tubo de FX refrigerado (día0: 6,4197; día1: 6,4131; día2: 6,4279; día10: 6,3885; día17: 6,2344; día27: 6,2836); HbA1c analizadas en el tubo de K2 EDTA tras congelación a -80° C (día 0: 6,4377; día7: 6,2852; día30: 6,2557); HbA1c analizadas en el tubo de K2 EDTA con lavado de hematíes y congelación a -80° C (día0: 6,4627; día7: 6,6220; día30: 6,6017); HbA1c analizadas en el tubo de FX con lavado de hematíes y congelación a -80° C (día0: 6,4377; día7: 5,9311; día30: 5,9492). Se realizó también el estudio de las correlaciones comparando la referencia antes mencionada con todas las muestras en diferente tubo y conservadas a diferente temperatura. Los resultados fueron: para el tubo de K2 EDTA y el de FX refrigerado el coeficiente de correlación más bajo fue de 0,994 el día 27; K2 EDTA después de 7 días y de 30 días tras congelación a -80° C (0,999; 0,998); K2 EDTA con lavado de hematíes después de 7 días y de 30 días tras congelación a -80° C (0,993; 0,994); FX con lavado de hematíes después de 7 días y de 30 días tras congelación a -80° C (0,965; 0,964).

#### CONCLUSIONES:

Podemos concluir por tanto que se puede determinar la HbA1c de forma óptima en muestras refrigeradas después de 2 días tras la extracción tanto en muestras contenidas en K2 EDTA como en FX, siendo quizás necesarios estudios posteriores que analicen los datos entre el día 2 y el 10 tras la extracción. Y proponemos para la medida de la HbA1c el día 10 en FX refrigerado ajustar con la ecuación de la recta, así como con las muestras congeladas con K2 EDTA con lavado de hematíes tanto a los 7 días como al mes.

## ESTUDIO DEL TEST O'SULLIVAN EN EL DIAGNÓSTICO DE DIABETES GESTACIONAL EN EL SECTOR I DE ZARAGOZA

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* BARRACHINA CARRANZA SUSANA, URCIA ROZAS CARLOTA

*Centro de trabajo:* CME GRANDE COVIAN de 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 el cribado de la Diabetes Gestacional mediante el test de O'Sullivan, a las embarazadas que no sean diabéticas conocidas, entre la semana 24-28 de gestación, ya que es el momento de máxima rentabilidad diagnóstica.

El test de O'Sullivan consiste en medir la glucemia en plasma/suero venoso y glucosuria a los 60 min de un test de sobrecarga con 50 gr de glucosa. Es positivo cuando la glucemia es  $\geq 140$  mg/dl, debiéndose realizar posteriormente una prueba confirmatoria con un nuevo test de SOG de 100 gr.

Los criterios diagnósticos para identificar mujeres con Diabetes Gestacional no son en la actualidad, universales, existiendo diversos criterios. La prueba más empleada, aceptada y validada para el diagnóstico de la Diabetes Gestacional es la Sobrecarga Oral de Glucosa (SOG), que se realiza con la administración oral de 100 gr de glucosa y determinaciones tanto de glucemia (basal, 60 min, 120 min y 180 min) como de glucosuria.

### Objetivos:

Nuestro objetivo ha sido el evaluar el grado de cumplimiento del protocolo recomendado por la SEGO (Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia) y la posible importancia clínica de glucosurias en test de O'Sullivan con valores séricos negativos.

### Material y métodos:

Es un estudio retrospectivo de los todos los test de O'Sullivan realizados durante el año 2010 en el Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Royo Villanova del Servicio Aragonés de Salud en Zaragoza.

El número de pacientes a los que se les realizó un test de O'Sullivan fue de 702, con edades comprendidas entre 15 y 47.

Las muestras de suero fueron procesadas en un analizador Cobas-711 de la casa Roche.

Las orinas se procesaron en un analizador Cobas-311 de la misma casa.

Los reactivos y los controles también de la casa Roche.

A todos ellos se les realizó una glucosuria post-curva.

Las pacientes se SOG de 100 grs proceden de:

- O'Sullivan positivas (glucemia  $>140$ ).

- O'Sullivan con glucosuria positiva.

### RESULTADOS:

Se registraron 702 curvas de O'Sullivan.

De las cuales los valores de glucosa en sangre a los 60min de la toma comprendían entre:

- 120-139 mg/dl: 127 pacientes (18.09%)

-  $>140$  mg/dl: 196 pacientes (27.82%)

- Negativas: 54.09%

Ante los resultados patológicos anteriores 134 pacientes repitieron la SOG esta vez de 100 gr obteniendo:

- 120-139 mg/dl: 7 pacientes (5.22%)

-  $>140$  mg/dl: 127pacientes (94.77%)

El índice global de seguimiento es de un 41.48%

Las pacientes que presentaron glucosa en orina a los 60 min de la toma fueron 367 pacientes. De estas:

- 28 corresponden a curvas de glucosa de 100 gr con glucosurias positivas O'Sullivan.

- 22 corresponden a curvas de glucosa de 100 gr que a los 180 min valores de glucosa en suero son  $>140$  y glucosurias positivas O'Sullivan.

- 6 corresponden a pruebas de SOG de 100 gr que a los 180 min el valor es  $>140$  mg/dl y glucosuria positiva, mientras que el test de O'Sullivan es  $<140$  mg/dl y glucosuria positiva.

### CONCLUSIONES:

1.- Pese a las recomendaciones de la SEGO (Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia) el porcentaje de SOG de 100 gr de glucosa, sólo llega al 41.48%.

2.- El 94.77% de los test de O'Sullivan positivos dieron una SOG de 100 gr  $> 140$  mg/dl.

3.- Es significativa la existencia de seis casos de glucosurias positivas en SOG con 100 grs, que también lo fueron positivas en el test de O'Sullivan y fué el único motivo para realizar la curva larga.

## ACTUALIZACIÓN DEL DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DE HIPERALDOSTERONISMO PRIMARIO. ESTUDIO DE UN CASO.

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* León Redondo, Salvador - De No Lenganan, María del Carmen - Jareño Rico, María del Carmen - Batiz Endemaño, María Amaya - Feijoo Conde, Margarita - Jairo Larrínaga, María Begoña - Alonso Miguel, María Pilar

*Centro de trabajo:* Hospital de Galdakao

*Provincia:* Vizcaya

*Correo electrónico del primer firmante:* salvador.leonredondo@osakidetza.net

### Introducción:

El hiperaldosteronismo primario (HAP) consiste en una producción excesiva de aldosterona debido a una enfermedad suprarrenal y no a un exceso de secreción de renina (hiperaldosteronismo secundario). Esto ocasiona expansión del volumen extracelular, hipertensión arterial y supresión de la secreción de renina.

El diagnóstico temprano del HAP no sólo es importante por la posible curación quirúrgica o farmacológica de algunas formas, sino también por la asociación entre la duración de la enfermedad y el desarrollo de complicaciones cardiovasculares.

### Objetivos:

Valorar la técnica de cateterismo suprarrenal bilateral para el diagnóstico etiológico de hiperaldosteronismo primario, mediante la determinación de cortisol y aldosterona en el suero de sangre extraída de vena adrenal derecha, izquierda y vena cava.

### Material y métodos:

Las medidas de cortisol se realizan mediante quimioluminiscencia en un equipo ADVIA CENTAUR XP de SIEMENS. Y las determinaciones de renina y aldosterona se realizan mediante radioinmunoensayo de DIASORIN.

Se obtienen 4 muestras: 1. Muestra basal para la determinación de renina, aldosterona, cortisol, sodio y potasio. 2. Muestra de vena adrenal derecha. 3. Muestra de vena adrenal izquierda. 4. Muestra de vena cava inferior. En las muestras 2,3 y 4 se determinará cortisol y aldosterona.

Criterios de validez del procedimiento:

Se determina el cortisol en todas las muestras para asegurar la adecuada localización del catéter. El cociente de la concentración de cortisol entre cada una de las venas adrenales y la vena cava inferior, debe ser mayor a 5 tras el estímulo con ACTH.

Criterios de lateralización:

Se realizan los cocientes aldosterona/cortisol de cada vena adrenal. De estos cocientes se divide el mayor entre el menor. Se considera adenoma o hiperplasia unilateral cuando este ratio es mayor o igual a 4. Y se considera bilateral cuando el ratio es menor a 3. El ratio entre 3 y 4 se considera zona gris, por lo que debe ser interpretado junto con otras pruebas dinámicas y de imagen.

### RESULTADOS:

1. Muestra basal (30 min. antes de infusión con ACTH): cortisol:10.3 µg/dl; aldosterona:153 pg/ml

2. Vena cava inferior (VCI): cortisol: 24.9 µg/dl; aldosterona: 459 pg/ml

3. Vena adrenal izquierda (VAI): cortisol: 410 µg/dl; aldosterona: 8030 pg/ml

4. Vena adrenal derecha (VAD): cortisol: 1185 µg/dl; aldosterona: 42600 pg/ml

Criterios de validez del procedimiento:

Cortisol VAI/Cortisol VCI:  $410/24.9 = 16.5$  (cociente  $> 5$  confirma correcta cateterización de VAI).

Cortisol VAD/Cortisol VCI:  $1185/24.9 = 47.6$  (cociente  $> 5$  confirma correcta cateterización VAD).

Criterios de lateralización:

Cociente Aldosterona/Cortisol VAI:  $8030/410 = 19.6$

Cociente Aldosterona/Cortisol VAD:  $42600/1185 = 35.9$

Ratio AD/Ratio AI:  $35.9/19.6 = 1.83$  (ratio  $< 3$  orienta a hiperaldosteronismo bilateral).

### CONCLUSIONES:

La técnica de cateterismo suprarrenal bilateral es de suma importancia para el diagnóstico etiológico del hiperaldosteronismo primario unilateral o bilateral, y requiere una adecuada coordinación entre los servicios de endocrinología, radiología intervencionista y laboratorio.

## ESTRATEGIAS EFICACES EN LA MEJORA DE IDENTIFICACIÓN INEQUÍVOCA DE SOLICITUDES Y DE MUESTRAS BIOLÓGICAS. ELABORACIÓN DE UNA INSTRUCCIÓN DE SEGURIDAD

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* M. Jesus Nieto Bazan, Florentina Geriz Serrano, Carmen Alvarez López, Isabel Ortega Madueño, Manuel Arroyo Fernández

*Centro de trabajo:* HOSPITAL CLÍNICO SAN CARLOS. MADRID

## Introducción:

Los errores de identificación del paciente y/o sus muestras biológicas suponen un problema grave con repercusión directa e inmediata, conllevando un potencial riesgo para el paciente. En el momento actual se evidencia la existencia de solicitudes en las que la identificación del paciente es incorrecta, ya sea por datos erróneos, incompletos e incluso por ausencia de datos.

## Objetivos:

Elaboración conjunta entre el Laboratorio y la Unidad Funcional de Gestión de Riesgos (UFRG) de una Instrucción de Seguridad de Identificación inequívoca de solicitud y muestras biológicas, de obligado cumplimiento para todos los profesionales.

## Material y métodos:

Se analizan las incidencias de identificación de las solicitudes que nos llegan a nuestro Laboratorio durante el mes de junio de 2010 (grupo pre o previo a la Instrucción). Se detectan los puntos críticos de ambas procedencias. Se utilizan como indicadores-clave los volantes con las siguientes características: sin etiqueta del paciente, identificación escrita a mano con letra ilegible, sin datos del paciente, con identificaciones erróneas (nº de historia clínica no corresponde con el paciente). A continuación, se realiza un informe con todos los datos analizados que se presenta a la Unidad Funcional de Riesgos del Hospital, quien decide junto con la dirección y la gerencia del hospital elaborar una Instrucción de Seguridad de Identificación inequívoca de pacientes y sus muestras biológicas de obligado cumplimiento. Para ver la eficacia de la Instrucción evaluamos durante el mes de Enero de 2011 los indicadores clave (grupo post o posterior a la Instrucción).

## RESULTADOS:

La media de volantes por día procedentes de Urgencias es de 312. El porcentaje comparativo de incidencias en la identificación de ambos grupos (pre y post) es el siguiente: Sin etiqueta de paciente: 3.82% en el pre y 2.78% en el post. Con datos de pacientes ilegibles: 1.32% en el pre y un 0.93% en el post. Sin datos del paciente: 0.38% en el pre y un 0.29% en el post. Con identificación errónea: un 0.89% en el grupo pre y un 0.84% en el grupo post.

## CONCLUSIONES:

Los datos reflejan que la Instrucción de Seguridad esta siendo eficaz en disminuir las incidencias en la identificación del paciente.

La implicación y el compromiso de todos los profesionales así como el obligado cumplimiento de la Instrucción de Seguridad son de vital importancia en este tema

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 148

## SEDIMENTO URINARIO. AUTOMATIZACIÓN Y MICROSCOPIO.

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Pilar Hernández Marcos, Rosario Jiménez Rubio, Leticia Barrera Cortés, Begoña García Velilla, M<sup>a</sup> Jesús Ortega Martínez, Manuela Reymundo Cuesta.

Centro de trabajo: LABORATORIO DE NEFROLOGÍA. HOSPITAL RAMÓN Y CAJAL. MADRID

Correo electrónico del primer firmante: phmarcos@salud.madrid.org

## Introducción:

En nuestro laboratorio, utilizamos el microscopio para la observación del sedimento urinario (sedimento y recuento de Addis). Dado que nuestros pacientes están afectados por enfermedades renales, la patología es muy amplia y la formación de las personas para ver el sedimento es larga. Nos planteamos la conveniencia de automatizar el sedimento, que ya está siendo práctica habitual en los laboratorios generales. El objetivo de este trabajo es dilucidar cual es el mejor analizador a nuestro alcance y su comparación con los resultados resultados del microscopio.

## Material y métodos:

Fase 1.- 149 orinas de pacientes llegados al laboratorio en la primera media hora (3 a 5 diarios) entre los días 3 de marzo y 20 de abril de 2010 con sedimento solicitado. Se procesó sedimento y recuento de Addis en cámara de Neubauer, urianálisis (AutionMax, Arkray, Menarini) y análisis automatizado del sedimento en SMax (SediMax, Menarini) e Iris (Iris iQ200, IL; IZASA, resultados corregidos). Fase 2.- 138 muestras de orina procesadas en los meses de enero y febrero de 2011 de modo similar a la fase anterior excepto el proceso en el Iris. Todos los datos han sido recogidos en un fichero Excel (Microsoft) y analizados en este.

Fase 2	Hematíes		Leucocitos	
	micro	SMax	micro	SMax
promedio	81	97	22	35
mediana	16	15	5	8
DS	144	170	62	76

## RESULTADOS:

Fase 1.- Nuestra hipótesis era que el Iris, con su análisis neuronal de las imágenes, sería lo más adecuado, pero ante nuestra sorpresa, se saturaba cuando había muchos elementos y dejaba gran cantidad sin clasificar que debían ser recolocados por el técnico,

con un gran consumo de tiempo incluso similar al del microscopio. Tanto el Iris como el SediMax descartan muy aceptablemente las orinas sin patología. Entre Iris y SMax hay una correlación positiva para hematíes y leucocitos, pero son diferentes ( $hSMax = 0.30 hIris + 16.34$ ,  $R^2 = 0.70$ ;  $LSMax = 0.58 LIris + 4.1$ ,  $R^2 = 0.65$ ). Los resultados mejoran si se consideran solo las muestras con leucocitos < 200 y hematíes < 2000. resultados similares se obtienen frente al microscopio. En cuanto a cilindros se observaron en 18 ocasiones en microscopio, y sólo 1 vez en cada aparato (previa revisión).

Fase 2.- Hematíes: SMax vs microscopio (Micro). Salvo excepciones de intensas hematurias y/o hematíes fantasma, SMax ha contado más ( $hSMax = 0.7492 hMicro + 30.32$ ,  $R^2 = 0.47$ ); Igual ocurre con los leucocitos ( $LSMax = 0.7625 LMicro + 17.626$ ,  $R^2 = 0.39$ ). Hay mucha dispersión en las cifras muy altas. En cuanto a los cilindros, se han observado en 52 muestras de orina en el microscopio. El SMax ha indicado en 9 ocasiones cilindros hialinos (7 coinciden con cilindros en microscopio) y en 47 elementos patológicos (31 coinciden con cilindros en microscopio).

## CONCLUSIONES:

- 1) Ambos analizadores de sedimento urinario son válidos para descartar sedimentos normales.
- 2) En ambos los contejos de hematíes y leucocitos pueden ser buenos, pero en Iris hay que examinar con detalle todas las pantallas y recolocar células no identificadas, mientras que en SMax es suficiente una mirada a las pantallas (fotos directas del microscopio) para ver si hay algo como hematíes fantasma, cilindros o macrocitos, etc. no identificados.
- 3) El examen de cilindros en ambos analizadores no exige de la observación en microscopio.
- 4) Para nuestro trabajo con enfermos renales es una ayuda contar con los resultados de SMax junto al microscopio.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 149

## EVALUACIÓN DE UN NUEVO PROCEDIMIENTO DE MEDIDA DE LA TROPONINA I (DIMENSION EXL LOCI)

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: María José Díaz de la Llave, Ana Lucía Ferro, Margarita Pérez Riedweg, Bernardino González de la Presa

Centro de trabajo: Laboratorio Core, Bioquímica. Hospital Clínic de Barcelona.

Correo electrónico del primer firmante: Mariajosediaz94@hotmail.com

## RESUMEN:

Con el fin de mejorar los flujos de trabajo del laboratorio de urgencias del hospital Clínic de Barcelona se ha producido una renovación tecnológica en la que se ha incorporado un Dimension EXL para sustituir a los analizadores preexistentes: Advia 1200 y Centauro CP. Como consecuencia de esta renovación se ha cambiado el procedimiento de medida de la troponina I. El objetivo de este trabajo es evaluar las características del nuevo procedimiento de inmunoanálisis homogéneo incorporado: Troponina I Dimension EXL LOCI. Este novedoso procedimiento basado en la tecnología LOCI usa un sistema de canalización del oxígeno que permite eliminar los pasos de separación y lavado necesarios en los inmunoanálisis heterogéneos y mejorar de esta manera el tiempo de respuesta de esta magnitud.

## Material y métodos:

El estudio de la precisión interserial se ha realizado con el control Liquechek Cardiac Markers Plus Ref.145 Biorad (LCM 2 y 3) y con una mezcla de sueros de pacientes (para la concentración en el valor discriminante). Para ello se midieron cada una de las muestras o controles 20 veces en veinte series diferentes. A partir de los datos del estudio de imprecisión obtenidos en los controles se ha calculado también el error sistemático intralaboratorio comparando la media obtenida en este estudio con el valor asignado por el fabricante de los materiales de control.

Asimismo se ha realizado un estudio de inexactitud relativa con muestras de pacientes usando como procedimiento de referencia el Troponina I Centaur CP. Para ello se midieron con los dos procedimientos un total de 73 muestras de pacientes con concentraciones que comprenden todo el intervalo de medida del procedimiento evaluado. Para el estudio estadístico de la inexactitud relativa se usó el procedimiento de regresión lineal no paramétrica de Passing-Bablok.

## RESULTADOS:

Los resultados del estudio de imprecisión y de la inexactitud estimada con el uso de controles aparecen recogidos en la tabla 1.

Tabla 1

Material	Mezcla de sueros	LCM 2	LCM 3
Media obtenida (ug/L)	0,055	1,097	3,627
Media asignada (ug/L)	-	1,000	3,470
Desviación típica (ug/L)	5,28	0,078	0,235
Coefficiente de variación (%)	9,62	7,14	6,467
Error sistemático (%)		9,7	4,54

Para el estudio de inexactitud relativa con muestras de pacientes la ecuación obtenida es: Dimensión EXL Tnl = 1,136 (0,983 a 1,177) . Centauro CP Tnl 0,0084 (-0,011 a 0,0029).

#### Discusión

La National Academy of Clinical Biochemistry and IFCC Committee for Standardization of Markers of Cardiac Damage Laboratory Medicine Practice Guidelines establece que la imprecisión en el límite de decisión debe ser inferior al 10%. Teniendo en cuenta que el valor discriminante recomendado para este procedimiento es 0,055 ug/L este procedimiento cumpliría con esta recomendación ya que para la mezcla de sueros el CV obtenido es 9,6 %. También establece que para un marcador cardíaco el tiempo de respuesta para la liberación de resultado debe ser inferior a 1 hora. Con la incorporación de este procedimiento homogéneo se ha pasado de un tiempo de análisis de 16 a 12 minutos con lo cual se ha mejorado el tiempo de respuesta.

El estudio de inexactitud relativa con muestras de pacientes indica que no existen diferencias sistemáticas proporcionales ni constantes entre los dos procedimientos estudiados.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 150

### ESTUDIO COMPARATIVO PARA IMPLEMENTAR LA MACROPROLACTINA EN UN LABORATORIO DE ATENCIÓN PRIMARIA

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Dorotea San Martín Martínez, Beatriz Serrat Orrios, Ariana Ferri Font, Maria del Carmen Fontiveros Sánchez y Concepción Ruiz de la Fuente Alba

Centro de trabajo: Laboratori Clínic L'Hospitalet-Cornellà

Provincia: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: bossan3@hotmail.com

#### Introducción:

La prolactina es una hormona hipofisaria constituida por una única cadena polipeptídica de 199 aminoácidos. Sin embargo, se diferencian 3 tipos de prolactina: monomérica, grande y muy grande o macroprolactina.

La prolactina monomérica constituye la forma plasmática predominante y con mayor actividad biológica, mientras que la prolactina grande y la macroprolactina son menos activas y se encuentran en menor concentración.

El método más frecuente utilizado para detectar la macroprolactina es la precipitación del suero con polietilenglicol (PEG) para separar la prolactina activa (sobrenadante) de la macroprolactina (precipitado).

#### Objetivos:

Nuestro objetivo es poner en marcha la técnica de precipitación de la macroprolactina con polietilenglicol (PEG) y posterior cálculo del porcentaje de recuperación de la prolactina. Hacer un estudio comparativo con los resultados obtenidos en nuestro laboratorio y el de referencia, y si no existen diferencias significativas, implementar la determinación de macroprolactina en nuestro laboratorio.

#### Material y métodos:

El estudio se ha realizado en un total de 43 muestras de suero cuyos valores de prolactina eran superiores a 500 mU/L.

En nuestro laboratorio, la prolactina sérica fue determinada por electroquimioluminiscencia mediante el analizador Elecsys MODULAR ANALYTICS E-170 (Roche®) y en el laboratorio de referencia por quimioluminiscencia no competitiva en el analizador Immulite 2000 (Siemens Healthcare).

La detección de macroprolactina fue realizada mediante la precipitación del suero del paciente con polietilenglicol (PEG) y posterior determinación de la prolactina activa en el sobrenadante. Con el resultado de la prolactina inicial (suero) y la prolactina activa hallada en el sobrenadante (PEG) y aplicando la fórmula del % de recuperación obtenemos un porcentaje con el que podemos concluir la presencia o ausencia de macroprolactina. Definimos la presencia de macroprolactina cuando la recuperación es inferior a un 40%.

#### RESULTADOS:

En los 43 sueros analizados, se han detectado 4 casos de presencia de macroprolactina, 3 de presencia de forma mixta, y el resto (36) ausencia de macroprolactina. Hay una concordancia del 95,3% entre los resultados resultados de los dos laboratorios. Los dos casos discrepantes corresponden a recuperaciones del 54,8% y 70,9%, que fueron clasificados como forma mixta y ausencia de macroprolactina, respectivamente, mientras que el laboratorio de referencia obtuvo recuperaciones más bajas.

#### Conclusión:

Se observan mínimas diferencias entre los resultados de los dos laboratorios, las cuales atribuimos a la utilización de reactivos e instrumentación diferente. La practicabilidad de la técnica también se valoró positivamente.

Por todo ello, decidimos implementar la determinación de la macroprolactina en nuestro laboratorio con la finalidad de evitar la derivación de la muestra a un centro externo, agilizar la entrega de los resultados y disminuir el indicador de demora de los análisis que se derivan.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 160

### ESTUDIO DE LA DEMANDA Y COSTE DE TROPONINA EN EL LABORATORIO DE URG DEL HOSPITAL DE SAN AGUSTIN DE LINARES

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: MARIA CAPILLA ORTEGA PEREA, ANA AGUDO MORENO, ANTONIA MONTENEGRO CORREDERA ENCARNA PUENTES DIAZ

Centro de trabajo: HOSPITAL SAN AGUSTIN DE LINARES

Provincia: JAEN

Correo electrónico del primer firmante: coperea@hotmail.com

#### Objetivo:

Estudio enfrentado de analíticas de troponina cTnI s y costes de las mismas en el periodo comprendido entre 2008-2010 y comparativo de costes en función de resultados.

#### Introducción:

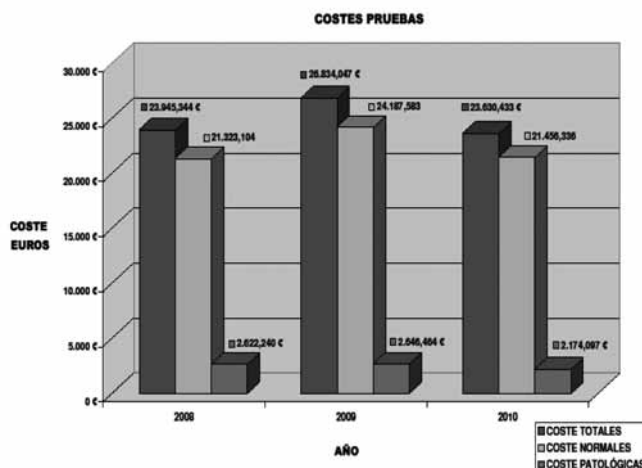
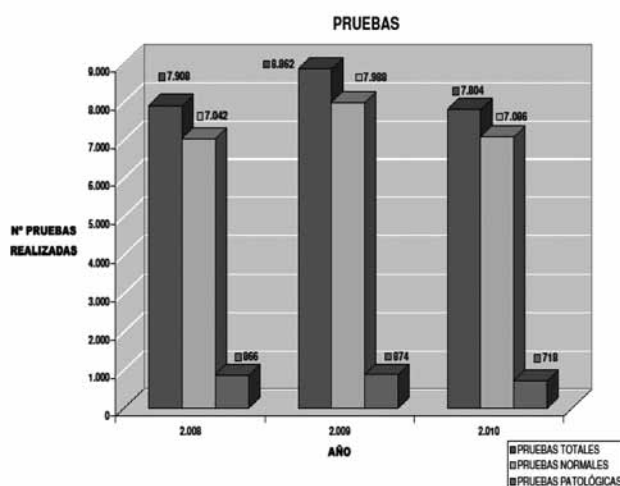
Como T.E.L es nuestra labor, no solo la realización de pruebas analíticas sino también conocer la necesidad real de las mismas para el diagnóstico clínico y el cargo económico que supone para la institución en que se realiza.

#### METODO Y MATERIAL:

Estudiadas las solicitudes de analíticas de Troponina recibidas en el servicio de urgencias, se realizó el cálculo estadístico de resultados positivos y negativos obtenidos durante el transcurso de los años: 2008, 2009, 2010, utilizando el soporte informático del que disponemos en nuestro laboratorio (OpenLab), realizando un estudio comparativo entre el gasto del total de pruebas y el coste que han supuesto las troponinas que nos resultaron positivas.

#### RESULTADOS:

El coste anual calculado por estas pruebas en función de sus resultados (positivos o negativos) se pueden observar en las graficas siguientes:



#### CONCLUSIONES:

1-Los resultados positivos durante el 2008, 2009, 2010, arrojan un resultado del 11%, 10%, 9% respectivamente observando una leve disminución en la demanda, con su consecuente descenso en los costes.

2-La puesta en marcha del protocolo normalizado para la solicitud de troponina de alta sensibilidad cTnI s facilita el descenso en el número de solicitudes recibidas al laboratorio de urgencias.

3-La utilización de otras pruebas alternativas por el diagnostico IAM, como el electrocardiograma supondría una reducción en el coste general por su descarte.

4-Por todo ello el T.E.L tiene la responsabilidad de incorporar a su tarea habitual el análisis tanto de la demanda como del coste de la determinación.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 164

### AUTOMATIZACION DE LA FASE PREANALITICA EN EL HOSPITAL TORRECÁRDENAS

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Felices Bernal Hortensia, Ortega González Esther, López López, María Antonia

Centro de trabajo: Complejo Hospitalario Torrecárdenas

Provincia: Almería

Correo electrónico del primer firmante: hortensia278@hotmail.com

#### INTRODUCCION:

La estructura actual del Servicio de Análisis Clínicos es el resultado del proceso de unificación de los laboratorios del Hospital Torrecárdenas y del CPE que comienza con la creación de una secretaría única, la formación de un CORE-LAB y el establecimiento de un área de preanalítica automatizada.

Se plantea la robotización de la fase preanalítica y la implantación de un sistema de gestión de muestras aprovechando las ventajas de la evolución tecnológica, mejorar el proceso productivo: integración y consolidación de módulos de preanalítica y archivo, simplificar la organización e integrar los sistemas de información.

#### Objetivos:

- Atender la demanda asistencial creciente mejorando el proceso.
- Orientar el laboratorio a la información diagnóstica y calidad asistencial.
- Resolver :
  - Espacios insuficientes
  - Gran cantidad de muestras
  - Errores preanalíticos
  - Tiempos de respuesta
  - Laboratorios compartimentados.

#### MATERIAL Y METODOS:

- IPB: Módulo de entrada con capacidad de hasta 300 muestras(en 2 bandejas).
- ACU: Módulo de centrifugado con rendimiento de 250 muestras /hora.
- DSP: Módulo de destapado de hasta 400 muestras /hora
- AQN: Módulo de alicuotado, alicuota on line, hasta 10 alicuotas/muestra
- BCL : Módulo de etiquetado hasta 450 muestras por hora.
- RSP : Módulo de retapado, tapón de plástico hasta 500 muestra hora.
- FSS: Módulo de clasificación de alicuotas hasta 15 destinos
- OPB: Módulo de salida de tubos

#### RESULTADOS: y CONCLUSIONES:

- Laboratorio altamente automatizado y especializado: Tiempo de respuesta de 1 a 24 horas.
- Integra AP, AH, Urgencias y Equipos de diagnóstico remotos.
- Espacios para almacenes y frigoríficos.
- Espacio independiente para servidores y SAIs .
- Reducción de errores preanalíticos en un 56%.
- Dedicar recursos a otras tareas que nos permitan avanzar en el desarrollo de nuevas áreas.

Resumen Comunicación Científica - ORAL PANEL

Número: 167

### ESTUDIO DE COMPARACIÓN DE MÉTODOS ENTRE LOS ANALIZADORES LX20 PRO Y HA-8160

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Morante Espinosa, Esmeralda; González Paz, Raquel; Figueira Ozón, Eliseo; Novoa Iglesias, Oscar; Taibo Ferrol, Carmen.

Centro de trabajo: Hospital Policlínico La Rosaleda

Provincia: A Coruña

Correo electrónico del primer firmante: loliqui2000@yahoo.es

#### Introducción:

Y objetivo Hemos incorporado a nuestro laboratorio un analizador HA-8160 (Menarini) para la determinación de hemoglobina glicosilada (HbA1c) que previamente realizábamos en un analizador LX20 PRO (Beckman Coulter). Antes de realizar el cambio de instrumentación hemos efectuado el correspondiente estudio de comparación de procedimientos.

#### MATERIAL Y METODOS:

Hemos utilizado el analizador por cromatografía de intercambio iónico (HPLC) HA-8160,

reactivos, calibradores y controles de la casa comercial Menarini. Alternativamente hemos empleado un analizador por colorimetría e inmunturbidimetría LX20 PRO, reactivos, calibradores y controles de la casa comercial Beckman Coulter.

Para el estudio de intercambiabilidad hemos empleado muestras de sangre total anticoagulada con EDTAK3 procesadas en ambos analizadores antes de transcurridas 8 horas de su obtención.

Además, hemos realizado estudios de imprecisión intraensayo e interensayo con controles a dos concentraciones diferentes siguiendo las normas establecidas por la SEQC.

En la comparación de métodos hemos empleado el paquete estadístico SPSS para Windows Vista (V. 17.0) y Microsoft-Excel (V.2007) para obtener la correlación de Pearson y la recta de regresión lineal (ajuste con mínimos cuadrados).

#### RESULTADOS:

Los resultados de imprecisión intraensayo e interensayo son inferiores al 5% para las dos concentraciones estudiadas:

	Intraensayo (n=20)		Interensayo (n=20)	
HbA1c	Concentración= 5.7 C.V.= 1.47%	Concentración= 10.0 C.V.= 1.85%	Concentración= 5.8 C.V.= 3.27%	Concentración= 10.1 C.V.= 2.09%

El análisis de regresión lineal obtenido para ambos métodos es el siguiente:

	r (Coeficiente de Pearson)	Recta de regresión (HA-8160= a+b*LX20 PRO)	
HbA1c	0.952	a= 0.0255	b= 1.0392

#### CONCLUSIONES:

La determinación de la HbA1c por cromatografía de intercambio iónico es un método fácilmente automatizable y de sencilla realización. Tanto los estudios de imprecisión como el coeficiente de correlación de Pearson son aceptables en el estudio que hemos realizado. Los resultados obtenidos por ambos métodos no presentan diferencias significativas por lo que ambos sistemas serían válidos para la determinación de HbA1c en sangre total.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 169

### INTERACCIÓN ENTRE TACROLIMUS E INHIBIDORES DE PROTEASA: A PROPOSITO DE UN CASO DE INTOXICACIÓN POR TACROLIMUS

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Gutiérrez Ramos Mª del Pilar, Ortega de Francisco Ana Mª, Lucas Gómez Margarita, Díaz-Valero Espada Mª Angeles, Martínez Guerrero Isabel Mª, Martínez Ercilla Sonia. Bajo la supervisión de la Dra. Parés Pollán Laura.

Centro de trabajo: Hospital Universitario 12 de Octubre

Correo electrónico del primer firmante: mariapilar1@ya.com

#### Objetivos:

La terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA) ha conseguido mejorar notablemente la expectativa de vida de los pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), dando el tiempo suficiente para que procesos crónicos evolucionen hacia una situación de insuficiencia terminal (hepática, renal, cardíaca), cuyo único abordaje posible es el trasplante. Las terapias inmunosupresoras son imprescindibles para evitar el rechazo del órgano trasplantado. Se han descrito interacciones entre el inmunosupresor tacrolimus y alguna combinación de TARGA, como la que incluye inhibidores de proteasa (lopinavir, ritonavir). En el presente trabajo hemos realizado la revisión de un caso clínico de un paciente trasplantado en nuestro hospital, en tratamiento con inmunosupresores, con inhibidores de la proteasa y monitorización pauta de estos inmunosupresores.

#### Material y métodos:

Varón de 46 años infectado por VIH. Con hepatopatía crónica en estadio cirrótico con Child Pugh C11, hepatocarcinoma quimioembolizado e infección pasada por virus de la hepatitis B. Ingreso hospitalario por descompensación hidrópica, hipersplenismo y cirrosis por virus de la hepatitis C, realizándose trasplante hepático ortotópico de donante cadáver (agosto 2009). Este paciente estaba en tratamiento con Kaletra (lopinavir y ritonavir), y se comienza inmunosupresión con ciclosporina. Un mes después del trasplante, el paciente ingresa por presentar deterioro del perfil hepático (AST 161 UI/L [5-40], ALT 400 UI/L [5-40], GGT 373 UI/L [3-52], bilirrubina total 5.2 mg/dL [0.2-1]). Se sospecha de un posible rechazo hepático agudo que se confirma mediante biopsia, observándose hepatitis lobulillar y microesteatosis por reacción a fármacos. Se suspende ciclosporina y se inicia tratamiento inmunosupresor con tacrolimus (5mg/12h). Para la ejecución de los niveles de estos inmunosupresores se utilizó un método inmunoquimioluminiscente de micropartículas (CMIA) en el analizador Architect de Abbott Diagnostics.

#### RESULTADOS:

En la monitorización de tacrolimus se observan niveles tóxicos y se suspende el tratamiento. Después de una semana de suspensión, se obtienen niveles normales, por lo que se reintroduce (3mg/24h) y se le da el alta domiciliaria. Nuevo ingreso en octubre de 2009 por presentar aftas orales (esofagitis por candida) y deterioro de la función renal (creatinina 1,7 mg/dL [0,7-1,1] mg/dl). Se determinan niveles de tacrolimus de 152,8 ng/mL [5-10 ng/ml]). El deterioro renal es asociado a nefrotoxicidad por tacrolimus, por lo

que se procede a suspender su tratamiento. Los niveles del inmunosupresor descienden lentamente y el deterioro renal va aumentando. El día 19 después del ingreso se suspende también el tratamiento antirretroviral, pensando en la interacción que éste produce sobre el metabolismo del tacrolimus. Esta medida conlleva el descenso de los niveles del inmunosupresor hasta alcanzar el rango terapéutico, a la vez que comienzan a disminuir las concentraciones séricas de creatinina. El día 25 se reintroduce el tratamiento con Kaletra y tacrolimus, éste último a una dosis muy inferior (0,5mg/10días) a la que se administró en un principio. Debido a que el inmunosupresor está controlado y la progresión de la creatinina es buena, el día 33 se le da el alta domiciliaria. Los controles posteriores a esta nueva pauta posológica ajustada muestran niveles de tacrolimus dentro del rango terapéutico y una función renal conservada.

#### CONCLUSIONES:

La información y colaboración entre la unidad peticionaria de niveles de fármaco y el laboratorio clínico es fundamental para el correcto seguimiento de los pacientes. Es esencial que en los pacientes con VIH post-transplantados en tratamiento inmunosupresor y que están siendo monitorizados, se informe siempre de la asociación del tratamiento antirretroviral para adecuar la dosificación y evitar de esta forma intoxicaciones con tacrolimus.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 170

### DETECCIÓN DE ANTIGENO DE SUPERFICIE DE HEPATITIS B EN EL MOMENTO DEL PARTO)

*Trabajo de:* Histoquímica.

*Autor/a/s:* García-Tirador Francisco 1, Mauri María del Carmen 1, Martínez-Peinado Antonio 2, Fernández-Riejos Patricia, Fabiani Fernando, 1Laboratorio de Urgencias, H.U. Virgen Macarena, Laboratorio de Hepatología, H. U. Virgen Macarena,

*Centro de trabajo:* H. U. Virgen Macarena

*Provincia:* SEVILLA

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

#### Introducción:

La detección de madres portadoras de virus de hepatitis B (AgHBs) es crítica para evitar la transmisión vertical del virus (VHB). Si el resultado es positivo se desencadena un procedimiento para evitar la transmisión al niño, consistente en una pauta de gammaglobulina.

#### Objetivo:

El objetivo de este trabajo es valorar la especificidad de los ensayos de determinación de AgHBs de VHB que disponemos en nuestro laboratorio.

#### Material y métodos:

La determinación de AgHBs de VHB en el Laboratorio de Urgencias de Bioquímica del Hospital Universitario Virgen Macarena se realiza mediante inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (Roche Diagnostics). La determinación de AgHBs de VHB en el Laboratorio de Hepatología del Hospital Universitario Virgen Macarena se realiza mediante inmunoensayo de quimioluminiscencia con diferente especificidad (Siemens Healthcare Diagnostics).

Hemos analizado 50 muestras de suero de mujeres con embarazo a término que se han recibido en el laboratorio de Urgencias de nuestro hospital. Todas ellas son muestras con resultado dudoso según el ensayo de determinación que se realiza en este laboratorio. Se determinó el AgHBs de VHB por las dos técnicas disponibles.

#### RESULTADOS:

El resultado dudoso de AgHBs de VHB del 70% de las muestras fue concluyente, empleando el ensayo de la otra casa comercial.

#### CONCLUSIONES:

Es necesario definir las interferencias que afectan a la especificidad de los distintos ensayos inmunológicos de detección de marcadores virales, dada su influencia en los protocolos preventivos contra la transmisión de la hepatitis B.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 171

### VALORACIÓN DE LA DETERMINACIÓN DE MACROPROLACTINA EN 2010

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* Aguiar Gil, Adelaida; Millán Martín, Juan Carlos; Molina Ramírez, María Candelaria; González Piris, Gloria Isabel; García Ramírez, María del Pino

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

*Provincia:* Las Palmas

*Correo electrónico del primer firmante:* aagugill@gobiernodecanarias.org

#### Introducción:

La prolactina es una hormona peptídica sintetizada y secretada por las células lactótroas de la hipófisis anterior y su principal papel biológico consiste en controlar la producción de leche a nivel de la glándula mamaria; también ejerce otras funciones en el campo de la

reproducción y la inmunidad.

Las causas más comunes de aumento no fisiológico de la prolactina son: el prolactinoma, lesiones en la región del hipotálamo-hipófisis y las hiperprolactinemias producidas por medicamentos.

En individuos sanos, la prolactina circula en la sangre en tres formas moleculares: un 85-90% en la forma monomérica con una masa molecular de 23 kda; un 10-15%, en otra forma de 50 kda denominada big-prolactina; por último, como complejo antígeno-anticuerpo, de aproximadamente 150 kda, denominado big-big-prolactina o macroprolactina.

La prevalencia y la repercusión clínica de la presencia de una macroprolactina no se conoce con exactitud, pero es un fenómeno frecuente.

#### Objetivo:

La necesidad de diferenciar la macroprolactina de las causas más relevantes de hiperprolactinemia, para ello estudiamos las macroprolactinas realizadas en nuestro laboratorio en el año 2010.

#### Material y métodos:

Hemos realizado el método clásico de precipitación de inmunocomplejos con polietilenglicol, que es el más utilizado en los laboratorios clínicos como procedimiento de cribado de macroproteínas. Es un método sencillo, efectivo y económico.

Mezclamos en un tubo eppendorf 500 µl de suero del paciente con 500 µl de polietilenglicol. Agitamos entre 5 y 10 segundos en el vórtex. Centrifugamos 20 minutos a 10.000 r.p.m., y determinamos la prolactina en el sobrenadante obtenido, por inmunoanálisis quimioluminiscente, en un sistema automatizado Architect i2000SR de Abbott.

#### RESULTADOS:

Se considera que existe macroprolactina cuando el porcentaje de recuperación de prolactina en el sobrenadante es inferior al 40%, y si es superior, se considera que la forma predominante es la monomérica.

El total de pacientes estudiados durante el año 2010 ha sido de 26: 5 varones y 21 mujeres, con edades comprendidas entre 10 y 60 años.

De ellos, 21 (80%) tenían prolactinas elevadas, y los 5 restantes (20%), tenían prolactinas fisiológicas pero con clínica que aconsejaba la realización de la macroprolactina.

De los 26 pacientes: 15 (57.7%) son positivos para la determinación de macroprolactina, 8 (30.7%) son negativos para dicha determinación, y en 3 (11.6%) no se pudo realizar la determinación por muestra insuficiente.

Estudio de la Macroprolactina en el año 2010

#### RESULTADOS:

Estudio de la Macroprolactina en el año 2010		
Incidencia por sexos	Nº de Casos	%
Hombres	5	19.2
Mujeres	21	80.8
Total	26	100

Estudio de la Macroprolactina en el año 2010		
Resultados	Nº de Casos	%
Positiva < 40%	15	57.7
Negativa > 40%	8	30.7
Muestra Insuficiente (MI)	3	11.6
Total	26	100

#### CONCLUSIONES:

La determinación de macroprolactina en el estudio de pacientes hiperprolactinémicos debe convertirse en una prueba rutinaria para conseguir un diagnóstico y tratamiento adecuado en estos pacientes, siendo el método de precipitación con polietilenglicol sencillo y adecuado para este fin.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 172

### ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA MEDIDA DE TESTOSTERONA LIBRE CON LA TESTOSTERONA LIBRE CALCULADA Y BIODISPONIBLE .

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* (Aguiar Gil, Adelaida; Millán Martín, Juan Carlos; Molina Ramírez, María Candelaria; González Piris, Gloria Isabel; García Ramírez, María del Pino

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

*Provincia:* Las Palmas

*Correo electrónico del primer firmante:* aagugill@gobiernodecanarias.org

#### Introducción:

La testosterona total circula en plasma de forma libre en un 2-3% y unida a proteínas como la globulina enlazante de hormonas sexuales (SHBG) y la albúmina. Los niveles de testosterona dependen de la tasa de producción, de la interconversión, del aclaramiento metabólico y de la concentración de proteínas. Por ello, la medida de la testosterona libre y

biodisponible refleja mejor el nivel de testosterona bioactiva que la medida de la testosterona total. Actualmente se sabe que la medida de la testosterona libre por radioinmunoanálisis (RIA) no es lo suficientemente sensible en aquellas patologías que presentan un déficit androgénico, tanto en hombres como en mujeres, y en la edad pediátrica, y se propone el cálculo de la testosterona biodisponible y testosterona libre calculada por la fórmula matemática de Vermuelen.

#### Objetivo:

Evaluar la correlación entre la testosterona libre medida por RIA con la testosterona libre calculada y la testosterona biodisponible, para sustituir un método de medida que precisa isótopos radiactivos por otro que no los utiliza.

#### Material y métodos:

En el estudio se incluyeron 142 pacientes, 67 hombres y 75 mujeres, con edad media de 34 años (rango de 8-81), a los que se le determinó la testosterona libre medida por RIA en un contador gamma de centelleo líquido utilizando el reactivo Coat-A-Count testosterona libre (Siemens). La SHBG y la testosterona total se determinaron por un inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas en el sistema Architect i 2000 (Abbott Laboratories) y la albúmina por el método verde de bromocresol en un autoanalizador Architect c8000 (Abbott Laboratories). La testosterona libre calculada y la testosterona biodisponible se calcularon utilizando la fórmula matemática derivada de la ley de acción de masas desarrollada por Vermuelen y colaboradores, que utiliza la medida de la concentración de testosterona total y SHBG para el cálculo de la testosterona libre y la testosterona total, la SHBG y la albúmina para el cálculo de la testosterona biodisponible. El análisis estadístico de los datos se realizó con un modelo de regresión lineal para ver el grado de correlación, utilizando el paquete estadístico Excel de Microsoft Office para Windows.

#### RESULTADOS:

Los resultados de las correlaciones obtenidas son los siguientes:

Correlación	Ratio (r)
Testosterona libre medida con testosterona total	0.83
Testosterona libre medida con testosterona libre calculada	0.87
Testosterona libre medida con testosterona biodisponible	0.87
Testosterona total con testosterona libre calculada	0.92
Testosterona total con testosterona biodisponible	0.91
Testosterona biodisponible con testosterona libre calculada	0.99

#### CONCLUSIONES:

En vista a los resultados obtenidos podemos concluir que la testosterona calculada y biodisponible presentan unos índices buenos de correlación con la testosterona libre medida por RIA, además correlacionan mejor con la medida de la testosterona total, por lo que el cálculo de estos parámetros resulta de interés en aquellos laboratorios en los que no se disponga de un contador de centelleo líquido.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 178

### ESTUDIO COMPARATIVO DE TOXICOS EN ORINA EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS 2009-2010

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Moreno Perez Maria Jose, García Yuste María del Carmen, Abad Quintana Evangelina, Sevilla Renedo María del Carmen, Alonso de Porres Vigalondo María del Carmen, Martínez González Laura, Al-Kassam Martínez Daniel

Centro de trabajo: Hospital General Yague. Complejo Asistencial Universitario de Burgos. (lab.Urgencias)

Correo electrónico del primer firmante: mjmorpe@hotmail.com

#### INTRODUCCION:

La creciente incidencia de las intoxicaciones por drogas de abuso o medicamentos y la importancia de un diagnóstico inmediato de las mismas hace imprescindible el uso de técnicas de screening en el laboratorio de urgencias.

#### Objetivo:

Conocer y comparar qué tipo de drogas de abuso son más frecuentemente detectados en los años 2009 y 2010 en el laboratorio de urgencias.

#### MATERIAL Y METODOS:

Determinación cualitativa en orina de drogas de abuso mediante inmunoensayo cromatográfico. Detectándose: anfetaminas (AMP), cocaína (COC), cannabis (THC), benzodiazepinas (BZO), antidepresivos tricíclicos (ACA), barbitúricos (BAR), metanfetaminas (MET), opiáceos (MOP), metadona (MTD), éxtasis (MDMA).

#### RESULTADOS:

En el año 2009 se procesaron 812 muestras de orina (de cada muestra se procesan 10 drogas diferentes), 39% fueron mujeres, 61% varones. Resultaron positivas 594 drogas; 28 positivas para anfetaminas (4.71%), 95 positivas para cocaína (15.99%), 96 positivas para cannabis (16.16%), 245 positivas para Benzodiazepinas (41.24%), 35 positivas para Antidepresivos tricíclicos (5.89%), 1 positivo para Barbitúricos (0.16%), 6 positivos para

Metanfetamina (1.01%), 49 positivos para Opiáceos (7.91%), 39 positivos para Metadona (6.56%) y finalmente 2 positivos para Éxtasis (0.33%).

En 2010 se procesaron 716 muestras de orina (de cada muestra se procesan 10 drogas diferentes), de las cuales 39% fueron mujeres y 61% fueron varones. Resultaron positivas 491 drogas; 27 positivas para anfetaminas (5.49%), 15 positivos para cocaína (3.05%), 41 positivos para Cannabis (8.35%), 279 positivos para Benzodiazepinas (56.82%), 42 positivos para Antidepresivos tricíclicos (8.55%), 5 positivos para Barbitúricos (1.01%), ningún positivo para Metanfetaminas (0%), 42 positivos para Opiáceos (8.55%), 40 positivos para Metadona (8.14%) y 6 positivos para Éxtasis (1.22%).

CONCLUSION: Los resultados positivos fueron más frecuentes en varones. Las Benzodiazepinas son las drogas más frecuentemente detectadas en ambos años. En 2009 le sigue la Cocaína y el Cannabis y en 2010 los Antidepresivos y el Cannabis.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 179

### VALORES DE PCR ULTRASENSIBLE EN EVENTOS CARDÍACOS AGUDOS

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Reina Company Diana; Montero Rodríguez L. Alberto; Ferrer López Antonio; Gaitero Rodríguez M.Cruz; Elorza Mendez Silvia; Tahsin Swafiri Saoud.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda-Madrid- 28222 Servicio de Bioquímica Clínica

Correo electrónico del primer firmante: diana.reico@hotmail.com

#### Introducción:

La proteína C reactiva (PCR) es producida por el hígado y por las células grasas (adipocitos). Se trata de un miembro de la clase de reactantes de fase aguda. Su incremento se debe a un aumento de IL-6 en la concentración de plasma, que es producido principalmente por macrófagos y adipocitos. Los niveles normales de Proteína C reactiva se incrementan en 6 horas y llegan al máximo en 48 horas. Su vida media es constante y su nivel está determinado principalmente por la tasa de producción. La proteína C reactiva es un indicador de infección e inflamación y por lo tanto, puede ser utilizada para determinar el riesgo de sufrir enfermedades cardíacas. Debido a que un nivel elevado puede ser causado por diversos motivos, no debe usarse como una prueba determinante y específica.

#### Material y métodos:

Se analizan los resultados de muestras procesadas con un método inmunoturbidimétrico potenciado con polietilenglicol (ADVIA 2400 - Siemens) realizados durante un mes con un valor de PCR inferior a 10 mg/L. Se determina de nuevo mediante un método de PCR ultrasensible con inmunonefelometría (BN II-Siemens). El total de muestras recogidas durante un mes fueron 60 de las cuales el 81.7% (48) hombres y un 18.33% (11) mujeres.

#### RESULTADOS:

Hemos encontrado que el 98% de los pacientes presentan algún evento cardiovascular, de los cuales, un 75 % la causa principal de consulta era el dolor torácico. El rango de los resultados de PCR ultrasensibles obtenidos en nuestro laboratorio va desde 0 a 8,5 mg/L. El 73,3 % (44) de los datos los encontramos en el rango que se sitúa entre 0,5 a 5,5 mg/L, de los cuales, el 65,91 % (29) presentaron dolor torácico, y un 34,09 % (15) otros diagnósticos (ICC, FA, IC, & .). Un 56,81 % (25) de los pacientes situados en este rango se diagnosticaron como angina de pecho o infarto agudo de miocardio (IAM) con alteraciones coronarias-enzimas elevadas o solo alteraciones coronarias. Entre 5,5 y 8,5 mg/L tenemos un 8,3% (5) de los casos con dolor torácico y alteración coronarias con enzimas alteradas. En el rango entre 0 y 0,5 no encontramos pacientes con alteraciones coronarias ni enzimáticas.

#### CONCLUSIONES:

En pacientes con eventos cardíacos agudos encontramos que la mayoría presentan unos niveles de PCR ultrasensible que oscila entre 0,5 y 5,5 mg/L. Estos datos confirman la utilidad de la PCR ultrasensible en el rango obtenido en nuestro laboratorio como marcador de procesos cardíacos y de su valor diagnóstico. Sería conveniente realizar el estudio ampliando el número de casos para ver si se sigue comportando el rango que hemos obtenido de igual manera.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 180

### AMONIO: ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS INTERFERENCIAS EN SU DETERMINACIÓN

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Morán Criado Araceli, Ruiz Santos Mª José, Crego Martín Amador, Pérez González Mª Isabel, Sanchez Mateos Carmen Beatriz, Saavedra Mozas Blanca, García Berrocal Mª Belén

Centro de trabajo: Complejo Asistencial de Salamanca

Correo electrónico del primer firmante: isicelim@gmail.com



## Introducción:

El amonio es un compuesto producido por las bacterias intestinales y por las propias 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 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 hemato-encefálica llegando al cerebro. En el cerebro, el amonio y otros compuestos metabolizados por el hígado pueden causar una encefalopatía hepática. Esta situación causa alteraciones mentales y neurológicas que pueden conducir a confusión, desorientación y eventualmente al coma e incluso la muerte. Los niños con niveles elevados de amonio pueden vomitar de manera frecuente, además de mostrarse irritables, y cada vez más apáticos o letárgicos.

## Objetivos:

Valorar las diferentes interferencias que puedan alterar la determinación de amonio en sangre con el fin de poder mejorar la valoración de los resultados en función de las posibles alteraciones en el análisis.

## Material y métodos:

Las determinaciones se realizaron utilizando el sistema cobas c 501/502 (ROCHE) que utiliza un método enzimático con glutamato-deshidrogenasa (GLDH) la cual cataliza la aminación reductiva del 2-oxoglutarato con  $\text{NH}_4^+$  y NADPH para formar glutamato y NADP+; la concentración de este último es directamente proporcional a la concentración de amoníaco. Se determina midiendo la reducción de la absorbancia (a longitud de onda 700/340 nm).

La muestra de elección debe ser: plasma tratado con EDTA bipotásico (tubo con tapón morado), sin hemólisis ni lipemia.

Hemos estudiado dos grupos de muestras de 54 pacientes cada uno; el grupo A: se realiza la prueba en plasma con EDTA bipotásico, tras ser recibida y a las dos horas. El grupo B: se realiza la prueba en plasma con heparina de litio, y en plasma con EDTA reciente.

Para el estudio estadístico hemos empleado el programa SPSS 18.0.

## RESULTADOS:

PARA EL GRUPO A: al ser una distribución normal (test Kolmogorov-Smirnov  $p=0.2$ ), utilizamos la correlación de Pearson.

La media de EDTA reciente 26.8 (23.18 - 30.4). Intervalo de confianza del 95 %.

La media de EDTA 2 horas 36.7 (32.5 - 40.9). Intervalo de confianza del 95%.

La correlación es de 0.737 y la significación es  $p < 0.05$ .

PARA EL GRUPO B: al ser una distribución no normal (test Kolmogorov-Smirnov  $p < 0.05$ ) utilizamos la correlación no paramétrica de Spearman.

La media de heparina reciente 56.3 (42.4 - 70.3). Intervalo de confianza del 95%.

La media de EDTA reciente 83.3 (68.4 - 98.3). Intervalo de confianza del 95 %

La correlación es de 0.606 y la significación es  $p < 0.05$ .

## CONCLUSIÓN:

Tras valorar los resultados obtenidos para el grupo A, se recomienda realizar la determinación de amonio lo antes posible, ya que con el paso del tiempo se incrementan los resultados.

En el grupo B, al no obtener una buena correlación, se tienen que desechar las muestras heparinizadas.

Por tanto, al procesar muestras de AP hay que tener en cuenta la demora para realizar el análisis, debido al tiempo empleado en el transporte de las mismas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 184

## ANÁLISIS DE DROGAS DE ABUSO EN LABORATORIO DEL HOSPITAL COSTA DEL SOL

Trabajo de: Bioquímica

Autor/a/s: Díaz Vico Ramona, Peralta Ramos Cristina, Porras Noguerolas Paula, Jiménez García Isabel.

Centro de trabajo: HOSPITAL COSTA DEL SOL. MARBELLA (MÁLAGA)

Correo electrónico del primer firmante: ramonadiaz57@hotmail.com

## Introducción:

El consumo de drogas de abuso es un problema social y sanitario cada vez más importante. El último informe del Observatorio Europeo sobre las drogas y toxicomanías, muestra que nuestro país se encuentra a la cabeza en el consumo de cannabis y cocaína, y el último informe del Observatorio Español sobre drogas indica que en los últimos años se ha producido un crecimiento importante en el consumo de cocaína. La determinación de drogas de abuso en orina se solicita frecuentemente a los pacientes con síntomas toxicológicos o con sospecha de consumo, para evaluar la situación clínica, establecer un diagnóstico y tomar las medidas terapéuticas necesarias.

## Objetivo:

El objetivo de nuestro trabajo ha sido mostrar la experiencia de nuestro laboratorio durante el año 2010, para ello hemos realizado una revisión de los positivos detectados para conocer la epidemiología de consumo en la población que atiende nuestro Hospital. Por otra parte en Marzo recibimos una alerta de seguridad en la determinación de THC para

nuestro método de análisis, y exponemos las medidas tomadas y los resultados obtenidos, y finalmente hemos iniciado un estudio para conocer la incidencia de adulteración en las muestras de orina.

## Material y métodos:

Nuestro laboratorio utiliza un panel de screening de 11 drogas (Triage Tox Drug Screen de Inverness Medical), para determinar mediante fluoroinmunoanálisis competitivo: Paracetamol, Anfetaminas, Metanfetaminas, Barbitúricos, Benzodiacepinas, Cocaína, Metadona, Opiáceos, Fenciclidina, THC, y Antidepresivos tricíclicos.

La alerta de seguridad nos obligó a comprobar todos los resultados positivos para THC. Para ello utilizamos el test SURESTEP de Innovacon Inc basada en un inmunoensayo cromatográfico competitivo, que tiene el mismo umbral que nuestro método habitual. Todas las orinas positivas para THC se congelaron a  $-20^\circ\text{C}$ , y se realizó una comprobación a posteriori con otro test basado también en un inmunoensayo cromatográfico competitivo (Drug Clip Tets 10 de Menarini Diagnostics), que también tiene el mismo umbral que los dos anteriores. Se ha iniciado un estudio para evaluar la incidencia de adulteración en la orina, tomando todas aquellas orinas de atención primaria con solicitud de drogas de abuso, en las que todos los tóxicos hayan sido negativos, siguiendo las recomendaciones de la SAMHSA (U.S. Substance Abuse and Mental Health Services Administration), que se basan en la determinación de la Creatinina, densidad, pH y nitritos

## RESULTADOS:

Durante el 2010 se han recibido un total de 1663 solicitudes de drogas de abuso en orina, que incluyen peticiones de atención primaria, urgencias y pacientes hospitalizados. No se ha encontrado ningún positivo a PCP. Tenemos un nº elevadísimo de positivos a BZO. En el perfil actual se incluye el paracetamol y tenemos un elevado nº de positivos también. Desde Marzo hemos tenido 483 positivos a THC, de los cuales 245 fueron falsos positivos. La incidencia de adulteración en las muestras estudiadas ha sido prácticamente nula

## CONCLUSIONES:

La PCP se podría eliminar del perfil ya que la epidemiología de consumo de nuestra zona nos demuestra que esta droga no se utiliza aquí. Los positivos a BZO se deben en su gran mayoría a que en urgencias se suele administrar antes del envío de las muestras de orina por lo habría que modificar esta forma de trabajar. Debido a que el paracetamol es positivo también en dosis terapéuticas, no aporta demasiado al perfil. Su única utilidad sería en casos en donde se desconoce la sospecha de intoxicación. El resto de positivos concuerdan con la epidemiología de consumo de drogas en España. Hemos detectado un 51 % de falsos positivos, lo cual es inaceptable para una prueba de screening. Hemos observado la evolución por meses, detectándose una ligera disminución en los últimos meses del año, pasando de un máximo de 58% en Junio a un mínimo de 32% en Diciembre, por lo que parece que se está corrigiendo el problema. La segunda comprobación realizada con las orinas congeladas corroboró el resultado obtenido con SURESTEP en el 100 % de los casos. La baja incidencia de adulteración no hace recomendable su detección sistemática en todas las muestras.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 186

## UTILIDAD DEL O'SULLIVAN POSITIVO EN LA DETECCIÓN DE DIABETES GESTACIONAL

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Serrano Fernández, María Inés; Navarro Plaza, Ana Flor; Tébar Salazar, Julián; Merino Lomas, María José; Lomas López, Francisca

Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen de las Nieves

Provincia: GRANADA

Correo electrónico del primer firmante: ines82serrano@hotmail.com

## INTRODUCCION:

El test de O'Sullivan es una prueba que se realiza a la embarazada durante el segundo trimestre de embarazo y que sirve para detectar la diabetes gestacional. Su importancia radica en el aumento del riesgo de diversas complicaciones obstétricas como son: sufrimiento fetal, macrosomías, muerte intrauterina, partos por cesárea y problemas neonatales.

## Objetivos:

Durante dos meses (diciembre 2010 y enero 2011), valorar el número de solicitudes de O'sullivan (determinar la cifra de glucosa en sangre venosa una hora después de la administración de 50gr vía oral) recibidas en el servicio de bioquímica del Hospital Universitario Virgen de las Nieves y su distribución por edades.

## Material y métodos:

Se determinaron 472 muestras sanguíneas procedentes de los diferentes centros de salud dependientes del Hospital Universitario Virgen de la Nieves durante un periodo de dos meses. A través del COBAS 501c tendrá lugar el estudio bioquímico de dichos sueros.

Los rangos de normalidad para un O'Sullivan negativo son de 80-140 mg/dl

## RESULTADOS:

De 472 peticiones de O'Sullivan, 41 se desconoce la edad, de las 431 restante obtenemos los siguientes resultados

EDAD	CASOS	O'SULLIVAN		
		<80 mg/dl	80-140 mg/dl	>140 mg/dl
15-19 años	10 (2.3%)	4	6	0 (0%)
20- 24 años	60 (13.9%)	21	32	7 (11.6%)
25- 29 años	111 (25.75%)	20	70	21(18.9%)
30-34 años	134 (31%)	20	87	27 (20.15%)
35-39 años	94 (21.8%)	13	62	19 (20.21%)
40-44 años	22 (5.1%)	3	16	3 (13.6%)

**CONCLUSIONES:** La complicación más frecuente durante el embarazo es la diabetes gestacional. Unos valores de O'Sullivan >140mg/dl, se considera el test positivo y se deberá realizar una Sobrecarga Oral de Glucosa (SOG): 1, 2 y 3 horas tras la administración de 100 gr glucosa via oral, para confirmar el diagnóstico de diabetes gestacional. La sensibilidad del test de O'Sullivan ha sido del 80%. Se observa como la mayor parte de los casos se centra en una franja de edad comprendida entre los 30-34 años, de los cuales un 20.15% presentan un O'Sullivan positivo.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 191

## COMPARACIÓN DE DOS MODOS DE TRABAJO DEL HA-8160 DE MENARINI PARA LA DETERMINACIÓN DE HEMOGLOBINA GLICOSILADA

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* del Álamo Mayo, María del Carmen; Fernández Castro, Jesús; Al-Kassam Martínez, Daniel; Mariscal Salas, M<sup>a</sup> Ángeles

*Centro de trabajo:* Hospital General Yagüe

*Provincia:* Burgos

*Correo electrónico del primer firmante:* carmen\_camaleonica@hotmail.com

### Introducción:

El analizador automático ADAMS A1c HA-8160 (Menarini Diagnostics®) determina los niveles de HbA1c, indicador del contenido medio de azúcar en sangre en las últimas seis a ocho semanas. Proporciona un índice de control de la glucosa en sangre e información postratamiento útil para prevenir el avance de la diabetes en personas que ya la padecen, así como datos útiles para diagnosticarla.

Existen dos modos de trabajo:

- modo de análisis normal: estandarizado y de uso en nuestro laboratorio para el análisis de HbA1c.

- modo de screening de la beta-talasemia: exclusivamente utilizado para la determinación de HbA2 aunque también aporta el resultado de hemoglobina glicosilada.

### Objetivo:

Determinar si el modo de screening de la beta-talasemia es válido para el análisis de HbA1c.

### Material y métodos:

El analizador utilizado emplea como procedimiento de medida la HPLC con calibración DDCT (Diabetes Control and Complications Trial). En condiciones de trabajo normales se analizaron por ambos modos de trabajo 75 muestras de sangre total anticoagulada con EDTA-3K. También se analizan diez repeticiones de cada control: un control bajo con [HbA1c]=6.1% y uno alto con [HbA1c]=11.4%, según datos aportados por la casa comercial.

Los métodos estadísticos utilizados fueron la recta de regresión y el test de Bland-Altman. El método Bland-Altman se utiliza para comparaciones entre métodos porque en relación al coeficiente de correlación, permite detectar si uno de los métodos se encuentra afectado por errores sistemáticos de inexactitud e imprecisión. También se calculó el coeficiente de variación de ambos modos de trabajo. El software estadístico utilizado fue Medcalc® (versión 11.0.1.0).

### RESULTADOS:

La ecuación de regresión resultante ha sido de  $y = 0.1850 + 0.9537 x$ , donde  $y$  = resultados del modo de screening de la beta-talasemia y  $x$  = resultados del modo de análisis normal. El valor de la ordenada en el origen ha sido 0.1850 (95% IC: 0.1254 a 0.2445) y el de la pendiente de 0.9537 (95% IC: 0.9460 a 0.9614). El coeficiente de correlación fue  $r = 0.9988$ . La prueba de Passing-Bablok no mostró diferencias significativas de linealidad ( $p9,0,0001$ ).

Los coeficientes de variación de la técnica se sitúan entre 0.41% del control alto y 1.08% del control bajo en el modo de análisis normal; y entre 0.62% del control alto y 0.93% del control bajo en el modo de screening de la beta-talasemia.

El método Bland-Altman permite observar un sesgo de un -2% del modo de trabajo a estudio en comparación con el de referencia. Mediante el modo de screening de la beta-talasemia se obtienen resultados ligeramente inferiores al modo de referencia.

### CONCLUSIONES:

Se deben establecer nuevos valores de referencia debido a la presencia de un error

proporcional y constante ya que el intervalo de confianza para la pendiente y la ordenada en el origen no incluyen el valor de 1 y el valor de 0 respectivamente.

Existe una buena correlación entre ambos métodos y los valores de HbA1c en el modo de screening de la beta-talasemia son válidos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 195

## UTILIDAD DE LA EXTRACCIÓN SERIADA EN LA PROLACTINA BASAL.

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* Alvarez Moreno Encarnación, de Reyes Garvía Antonia María, Baena Gonzalez María Dolores.

*Centro de trabajo:* Unidad Gestión Clínica Laboratorio Hospital de Baza

*Provincia:* Granada

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

### INTRODUCCION:

La medición de prolactina esta influenciada por una serie de factores que falsean el resultado obtenido. La realización de una extracción seriada de dos muestras durante la fase preanalítica, puede poner de manifiesto la influencia del estrés en estas determinaciones, que afecta al diagnóstico.

### Objetivo:

Nuestro objetivo es medir las diferencias en los resultados obtenidos entre dos extracciones de sangre separadas por 30 minutos.

### Material y métodos:

Se han realizado extracciones seriadas en todas las peticiones de prolactinas. Se analizaron 153 muestras de prolactinas basales y otras tantas de 30 minutos, desde Enero 2009 hasta Julio 2010. Se procesaron en un analizador Fusión 5600 y Fusión 3600 de Ortho Clinical Diagnostic de Johnson and Johnson. Se realiza una comparación de medias de datos apareados mediante un test de Wilcoxon.

### RESULTADOS:

Las distribuciones de las prolactinas mostraron un test de Shapiro-Wilk altamente significativo, lo que demostraba que no siguen la distribución normal de Gauss, por ello se ha empleado el test no paramétrico de Wilcoxon para comparar las medias de ambas. Este test demuestra que las diferencias de las medias son estadísticamente significativas, pero, ¿son clínicamente significativas?

Análisis estadístico descriptivo				
N=141	Medias	DS	Min	Max
Prolactina ng/ml	30,03	21,5	2,3	168,3
Prolactina 30 '	26,91	20,9	2,2	147,8
Diferencias	3,21	5,1	18,2	20,8

Test de Wilcoxon	
	Media R
Rangos neg	121
Rangos pos	17
Empates	3
Total	141
Z = -8,11	p<0,001

Lo serán si estas diferencias superan a los errores máximos permitidos. La Sociedad Española de Química Clínica (SEQC), ha publicado unos errores sistemáticos, aleatorios y totales mínimos para cada determinación analítica. En el caso de la prolactina dichos errores máximos son EA% = 5,2, ES% 23,1, y ET% = 31,6.

### CONCLUSIONES:

1º Los resultados de prolactina basal son superiores a los de prolactina 30 minutos. Esto confirma lo referido por la bibliografía, respecto a la influencia del estrés de la extracción en los resultados de la prolactina basal.

2º Respecto a una media de 30 ng/ml, el estrés provoca un aumento de 3.2 ng/ml (10,6%) en las prolactinas basales. Este aumento no sobrepasa el error total máximo permitido para la prolactina.

3º Se contabilizan 69 prolactinas basales patológicas y solo 52 prolactinas de 30', un 24,6% menos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 196

## UN CASO DE GOLPE DE CALOR.

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* Alvarez Moreno Encarnación, de Reyes Garvía Antonia María, Baena Gonzalez María Dolores.

*Centro de trabajo:* Unidad Gestión Clínica del Laboratorio Hospital Baza

Provincia: Granada

Correo electrónico del primer firmante: naxnita@hotmail.com

### Introducción:

El golpe de calor es una emergencia médica caracterizada por un incremento de la temperatura corporal central por encima de 40°C y alteraciones del sistema nervioso central consecuencia de un fallo agudo del sistema termorregulador. como forma de hipertermia asociada con respuesta inflamatoria sistémica y el consecuente desarrollo final de fracaso multiorgánico en el cual predomina la encefalopatía.

### Objetivo:

Estudiar la afectación de los parámetros analíticos en un caso de golpe de calor.

### Material y métodos:

Las muestras de este paciente fueron procesadas en un Fusión 5.1 FS de Ortho Clinical Diagnostic, de Jonhson and Jonhson. Los análisis de citoquinas se remitieron al centro de referencia Centro Inmunológico de Cataluña

### RESULTADOS:

Varón de 38 años, tras una caminata en Julio, se quejó de mareos. A la llegada al centro de salud el paciente estaba comatoso (Glasgow Coma Escala 6), con insuficiencia respiratoria y cardiovascular (TA 60/20 mm Hg, frecuencia cardíaca 166/minuto). En el momento de la admisión hospitalaria, la temperatura corporal fue 40,8 ° C.

Coagulación		V.Ref.	Resp. inflamatoria sistémica.			Recuento hemático	
PTTA sg	57''	40''			V. Ref.	Leucocitos miles	13
T Protromb sg	30''	11''	sIL-2R pg/ml	1500	0-4,8	Hematíes millones	5,7
A. Protrob %	10,4	100	IL-4 pg/ml	3	-	Hemoglobina g/dl	16
Fibrinógeno mg/dl	107	200-450	IL-6 pg/ml	204	0-3	Hematocrito %	50
PDF microg/dl	>40	10-40	IL-8 pg/ml	40	-	VSG mm	57
Plaquetas miles/mm3	40	150-300	TNF alfa	38	0-20		

Función renal.				Pruebas de función hepática.		
	Sangre	V.Ref.	Orina	V.Ref.		V. Ref.
Urea	58 mg/dl	2 0 - 55	2 g/24h	14-35	ASAT U/L	2395 9-40
Creatinina	5,2 mg/dl	0,6 - 1,4	0,42 g/24h	1,5-2,5	ALAT U/L	2500 9-45
Uratos	20 mg/dl	3-7	0,18 g/24h	0,1-1	LDH U/L	2201 7 1 - 207
Proteínas	6 g/dl	6,6 - 8,3	2	<0,15	ALP U/L	183 3 3 - 105
Na	153 mEq/l	133-155	70 mEq/24h	30-260	Brb t. mg/dl	2,8 <1,5
K	2 mEq/l	3,6 - 5,5	67 mEq/24h	25-125	Brb d. mg/dl	1,5 <0,5

### CONCLUSIONES:

1º Las elevaciones importantes de las interleukinas IL-6 y IL-2R, son dos buenos marcadores pronósticos de la gravedad de la enfermedad.

2º Las elevaciones de las enzimas de citolisis y musculares, así como de los marcadores de filtración glomerular, son buenos indicadores del fallo multiorgánico.

3º Existe un alargamiento de los tiempos de coagulación, junto con un descenso de la concentración del fibrinógeno y de las plaquetas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 201

### MEDICIÓN NTproBNP MEDIANTE LA PLATAFORMA POCT TRIAGE

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Rodríguez López Juan José, Blanco Jiménez Josefa, Villanueva Datorre Rocío.

Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario de Santiago.

Provincia: A Coruña

Correo electrónico del primer firmante: jxlguu@hotmail.com

### Introducción:

El método de rutina utilizado en nuestro hospital para la determinación de NTproBNP es un inmunoensayo realizado en un MODULAR ANALYTICS E170 (Roche Diagnostics). Los resultados tardan 24 horas en ser recibidos por el médico. Con el fin de acelerar la respuesta de estos análisis se ha considerado realizar esta determinación en un POCT situado en la unidad coronaria, con el fin de que el clínico en menos de media hora conozca el estado del paciente.

### Objetivos:

Confirmar la validez del equipo TRIAGE-meter (Izasa) para determinar NTproBNP en un POCT mediante un estudio comparativo entre éste y el método utilizado habitualmente: un inmunoensayo realizado en un MODULAR ANALYTICS E170 (Roche Diagnostics).

### Material y métodos:

Se ha llevado a cabo un método de estudio comparativo entre el equipo TRIAGE-meter (Izasa) para NTproBNP y el MODULAR ANALYTICS E170 (Roche Diagnostics). Se utilizaron 160 muestras procedentes de 80 pacientes de la unidad coronaria. Se utilizó sangre entera para las determinaciones en el TRIAGE-meter (Izasa) y suero para las determinaciones MODULAR ANALYTICS E170 (Roche Diagnostics).

### RESULTADOS:

Se realizó un gráfico de dispersión comparativo entre las dos series de valores con su línea de ajuste y no se encontraron resultados discrepantes. Además se confirmó que el rango de valores cubría el rango de trabajo. Para comprobar la normalidad se realizó el test de Kolmogorov-Smirnov y se observó que eran no paramétricos. Se realizó un análisis de regresión de Passing-Bablok. El ajuste fue bueno entre los métodos, con los siguientes resultados NTproBNP[POCT] =1,418x NTproBNP[Automated]+1,014 ; CI for b [0,953 to 1,082]; CI for a [-43,238 to 44,205] (Passing Bablok; ma68= 675,317; diferencia de medias = 119; r=0,989\*\*; n=80). No se observó ningún sesgo proporcional o constante. El Test de Wilcoxon de rango de signos (Z=-0,158; p=0,874) indicó que no hay diferencias en los valores.

### CONCLUSIONES:

Concluimos que el ensayo TRIAGE para NTproBNP puede usarse en la práctica para que el clínico tenga unos resultados más rápidos que por el método tradicional, lo que mejorará el tratamiento del paciente.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 202

### GENOTIPOS DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C:FIBROSIS Y CIRROSIS HEPÁTICAS PUESTAS DE MANIFIESTO A TRAVÉS DE LA CUANTIFICACION DE LAS TRANSAMINASAS.

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: SOLEDAD CARRETERO CRUZ, JOAQUIN CARLOS BARRANTES ESPINO, CAROLINA SOISA LÓPEZ, MARIA DEL MAR TULLY SÁNCHEZ, BEATRIZ SACRISTAN ENCISO, JUAN LÓPEZ GÓMEZ.

Centro de trabajo: HOSPITAL REGIONAL UNIVERSITARIO INFANTA CRISTINA

Provincia: BADAJOZ

Correo electrónico del primer firmante: carsoilop@yahoo.es

### Introducción:

Unas transaminasas normales, tiene un alto valor predictivo negativo de no existir fibrosis hepática en la hepatitis por virus C crónica. Un cociente de la Transaminasa glutámico oxalacética /transaminasa glutámico-pirúvica menor de uno va a favor de iniciarse un proceso de fibrosis, mientras que un nivel de transaminasa glutámico-pirúvica doble de los niveles normales indicaría una cirrosis establecida.

### Objetivos:

Estudiar la incidencia de fibrosis y cirrosis hepática en los diferentes genotipos del virus de la hepatitis C mediante la cuantificación de la carga viral y de las transaminasas.

### Material y métodos:

Se realizó la carga viral, se determinó el genotipo y se cuantificaron las transaminasas a 386 sueros de enfermos genotipados durante cuatro años en nuestra área sanitaria. La carga viral se cuantificó por un método de Reacción en Cadena de la Polimerasa a tiempo real y el genotipo se determinó mediante una técnica de hibridación. Las transaminasas glutámico oxalacética y glutámico-pirúvica se determinaron mediante la técnica IFCC modificada( Internacional Federacion of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine). Se utilizó el test de ANOVA para estudiar la significación estadística entre las cargas virales de los pacientes con Transaminasa glutámico oxalacética y transaminasa glutámico-pirúvica normales, con Transaminasa glutámico oxalacética /transaminasa glutámico-pirúvica <1, y con transaminasa glutámico-pirúvica > 2.

### RESULTADOS:

Las cargas virales de la población infectada por HCV, son similares en los pacientes con Transaminasa glutámico oxalacética y transaminasa glutámico-pirúvica normales, con Transaminasa glutámico oxalacética /transaminasa glutámico-pirúvica <1, y con transaminasa glutámico-pirúvica > 2 veces su valor normal. No existiendo diferencias estadísticamente significativas entre las cargas virales de los pacientes con transaminasa

glutámico-pirúvica normal y aquellos con un cociente Transaminasa glutámico oxalacética /transaminasa glutámico-pirúvica <1 (p=0,226), ni entre la carga viral de los enfermos con transaminasas normales ni aquellos con un valor de transaminasa glutámico-pirúvica > 2 veces su valor normal (p=0,146), ni entre las cargas virales de los enfermos con Transaminasa glutámico oxalacética /transaminasa glutámico-pirúvica <1 y con transaminasa glutámico-pirúvica > 2 veces su valor normal (p=0,854).

De los 386 enfermos, el 36,7% (142) tenía las transaminasas elevadas. De estos 142 enfermos, el 57% (81) tenía un cociente de Transaminasa glutámico oxalacética / transaminasa glutámico-pirúvica menor de uno y el 43% (61) tenía de transaminasa glutámico-pirúvica doble del valor normal.

#### CONCLUSIONES:

La carga viral de los diferentes genotipos, no nos diferencia entre un hígado normal con fibrosis o cirrosis. Aunque en valores absolutos la mayoría de las fibrosis y cirrosis hepáticas en enfermos con hepatitis crónica debidas a infección por virus C, son debidas a los genotipos 1a y 1b, sin embargo, el 75% de los pacientes infectados por el genotipo 4 y los pacientes coinfectados por dos genotipos diferentes evolucionan a cirrosis, sin embargo la tasa de evolución de fibrosis a cirrosis es mínima en el genotipo 2.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 203

### HEPATÍIS POR VIRUS DE LA HEPATITIS C: CARGA VIRAL Y GENOTIPO

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: SOLEDAD CARRETERO CRUZ, CAROLINA SOISA LÓPEZ, JOAQUIN CARLOS BARRANTES ESPINO, MARIA DEL MAR TULLY SÁNCHEZ, BEATRIZ SACRISTAN ENCISO, JUAN LÓPEZ GÓMEZ

Centro de trabajo: HOSPITAL REGIONAL UNIVERSITARIO INFANTA CRISTINA

Provincia: BADAJOZ

Correo electrónico del primer firmante: carsoilop@yahoo.es

#### Introducción:

La carga viral en la hepatitis por virus C es un parámetro importante previo al tratamiento y la cuantificación seriada nos indica la respuesta al tratamiento.

#### Objetivos:

Estudiar si la carga viral nos puede predecir la patogenicidad de los diferentes genotipos del virus de la hepatitis C y si se correlaciona esta carga viral con el daño hepático manifestado por el aumento de la transaminasa glutámico-pirúvica.

#### Material y métodos:

Se cuantificó la carga viral en 386 sueros de enfermos con hepatitis crónicas y se estudió su genotipo. La carga viral se cuantificó por un método de Reacción en Cadena de la Polimerasa a tiempo real y el genotipo se determinó mediante una técnica de hibridación. Las transaminasa glutámico-pirúvica se determinó mediante la técnica IFCC modificada (Internacional Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine).

Se utilizó el test de ANOVA para estudiar la significación estadística entre las cargas virales de los diferentes genotipos, y entre carga viral y la transaminasa glutámico-pirúvica.

#### RESULTADOS:

Al representar los genotipos de la muestra estudiada 1a, 1b, 2, 3a, 4 y coinfección (pacientes infectados con dos genotipos distintos) en función de la carga viral, podemos observar como la carga viral de los genotipos oscila entre 2-8 log y que los genotipos con carga viral más alta son: 1a, 1b y 3a. Observamos diferencias estadísticamente significativas entre las cargas virales (p<0,05) del genotipo 4 con 1a, 1b, 3a y entre el genotipo 1a y 2.

Con respecto al daño hepático manifestado por el aumento de transaminasa glutámico-pirúvica, no encontramos correlación entre carga viral y dicha enzima (R2 de Pearson=0,003).

#### CONCLUSIONES:

Aunque las cargas virales mas elevadas se observan en los genotipos 1a, 1b y 3, sin embargo no se correlacionan con un mayor daño hepático cuantificado a través de la elevación de la transaminasa glutámico-pirúvica.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 205

### UTILIDAD DE LA PROTEÍNA C REACTIVA COMO MARCADOR BIOLÓGICO EN LA EVOLUCIÓN DE PACIENTES CON NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC).

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: LORENA RODRÍGUEZ LORENZO; EVA FLORINDA ORVIZ IGLESIAS; M<sup>a</sup> BELÉN VELASCO ROZADA.

Centro de trabajo: LABORATORIO A.C SILICOSIS- HUCA. OVIEDO

Correo electrónico del primer firmante: loreastur@hotmail.com

#### INTRODUCCIÓN:

La PCR es una proteína reactante de fase aguda que se eleva en las infecciones del tracto respiratorio, principalmente de causa bacteriana, siendo su determinación rápida y fácil de

realizar. Se produce fundamentalmente en el hígado.

La PCR tiene un papel adicional a los datos clínicos y radiológicos, tanto para la indicación correcta de un antibiótico como en la distinción de si el paciente presenta o no una neumonía. Su reducción podría ser indicación de una buena respuesta terapéutica. Los marcadores biológicos como la PCR constituyen una alternativa atractiva y potencialmente interesante para realizar el diagnóstico de infección y para monitorizar la evolución y la respuesta al tratamiento.

Los valores de referencia en nuestro laboratorio son 0- 0,5 mg/dl.

NAC (neumonía adquirida en la comunidad), es una infección sintomática aguda del parénquima pulmonar originada en el ámbito extrahospitalario. Los principales agentes causantes son las bacterias, fundamentalmente el neumococo.

#### Objetivo:

realizar un estudio para averiguar si la determinación de la PCR en el suero de pacientes con NAC al ingreso y tras 72 h de tratamiento ( días 1 y 4), puede ayudar al clínico en la valoración del tratamiento terapéutico pautado.

#### MATERIAL Y METODOS:

Suero de 50 pacientes con diagnóstico de neumonía adquirida en comunidad, se determina PCR al ingreso y al cuarto día.

Reactivo PCR, controles precinorm y precipath, cfas calibrador de Roche. Analizador: cobas 711 ( Roche). Método: Método inmunturbidimétrico. La PCR humana se aglutina con las partículas de látex recubiertas con anticuerpos anti-PCR monoclonales; el precipitado se determina por turbidimetría.

#### RESULTADOS:

Concentración PCR	Valores PCR 1 día ( ingreso)	Valores PCR 4º día ( 72 H)
0 - 5 mg/dl	0 / 0%	13/ 26%
5 - 10mg/dl	5 / 10%	13/ 26%
10 -20mg/dl	18 / 36%	17/ 34%
> 20 mg/ dl	27 / 54%	7 / 14%

Al iniciarse la respuesta de fase aguda, la concentración sérica de la PCR aumenta rápida y ampliamente. Las alteraciones de la concentración pueden detectarse tras 6 a 8 horas, mientras que el valor máximo se alcanza pasadas 24 a 48 horas.

Se observa al ingreso un número de pacientes con una concentración sérica > 20 mg/dl de PCR elevado y que al cabo de 72 horas (tras tratamiento) disminuye de forma considerable. En nuestro estudio en un 14% de estos pacientes los niveles de PCR persisten elevados, lo que indica que no están respondiendo al tratamiento.

#### CONCLUSIONES:

El principal valor clínico de la medida de PCR está en su correlación con el desarrollo de la enfermedad. La determinación de los cambios en la concentración de PCR proporciona información útil para diagnosticar el grado de agudización de la patología.

La PCR es útil para comprobar en una neumonía la efectividad del tratamiento antibiótico, puesto que pocos días después del inicio de una pauta antibiótica se debe esperar una caída en la concentración de la proteína si el tratamiento es efectivo.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 211

### ESTUDIO RETROSPECTIVO SOBRE DETERMINACIONES DE DROGAS DE ABUSO

Trabajo de:

Autor/a/s: Quintana Torrents, Roser - López Sánchez, Javier - Rosique Samper, Pau

Centro de trabajo: Laboratorio Clínico del Consorcio Hospitalario de Vic

Provincia: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: ramoniroser@hotmail.com

#### RESUMEN:

#### Introducción:

Nuestro laboratorio realiza determinaciones de drogas de abuso en pacientes que provienen del Centro de Asistencia y Seguimiento de Drogodependencias (CASD). La abundante información de la que se dispone nos ha permitido llevar a cabo un estudio retrospectivo sobre el consumo de las drogas de abuso: cannabis, cocaína, anfetaminas y opiáceos.

#### Objetivos:

Ver la evolución de la demanda de determinaciones y de consumo de drogas de abuso en pacientes bajo control y tratamiento en nuestra área de influencia durante el período 1997-2010.

#### Material y métodos:

Todas las determinaciones se realizan en el instrumento Beckman Synchron LX-20, con reactivos, calibradores y controles proporcionados por la misma casa comercial.

Para los cuatro parámetros, el método utilizado es un inmunoensayo enzimático homogéneo. Una mezcla de muestra y reactivo produce un cambio de absorbancia a 340 nanómetros, que se utiliza para calcular y expresar la velocidad de reacción. El resultado cualitativo se basa en una comparación de la velocidad de reacción en la muestra respecto a la velocidad límite de un calibrador.

Todas las determinaciones se realizan en orina reciente.

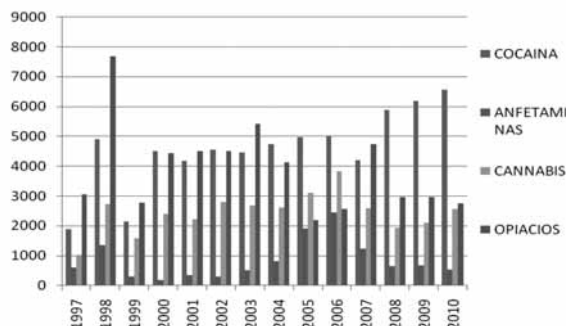
## RESULTADOS:

Desde 1997 hasta 2010 se han realizado en nuestro laboratorio 165.077 determinaciones, de ellas 64.243 de cocaína, 11.875 de anfetaminas, 34.171 de cannabis y 54.788 de opiáceos.

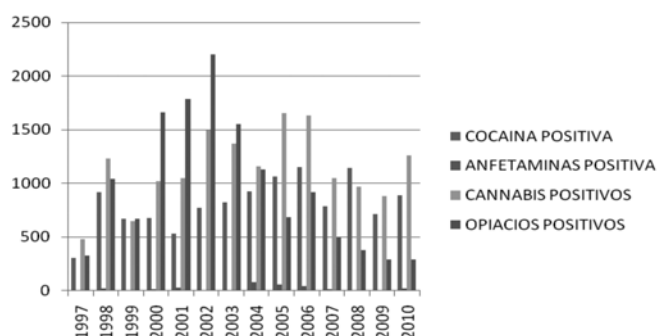
Las positividades fueron: Cocaína 9.457, Anfetaminas 275, Cannabis 16.179 y Opiáceos 13.418.

La demanda de este tipo de determinaciones se ha mantenido estable desde el año 2000 en que se realizaron 13.525 determinaciones, con pequeños aumentos, al año 2010 en que se hicieron 14.456.

### Demanda



### Positividades



## CONCLUSIONES:

Entre los años 1997 al 2002 las drogas mas consumidas por este tipo de pacientes fueron los opiáceos y el cannabis. A partir del año 2003 se observa una disminución del consumo de opiáceos, pasando a ser las drogas más consumidas el cannabis y la cocaína. Este cambio en el hábito de consumo probablemente puede deberse a que el consumo de estas dos drogas no comporta riesgos de contagio de enfermedades infecciosas como VIH, VHC, al no consumirse por vía endovenosa

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 217

## ESTUDIO DE UN NUEVO CPNTROL DE LA HbA1c EN UN LABORATORIO DE ATENCIÓN PRIMARIA

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: Cristina Alcalá Hernica, Tania Niubó Portís, Lucía Sancho Capellín, Manuel Ruiz Casanellas, Carmen Romero Gutierrez, Emilia Pérez Hernández

Centro de trabajo: Laboratori Clínic L'Hospitalet

Provincia: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: victorasier@hotmail.com

## Introducción:

Actualmente la hemoglobina glucosilada, HbA1c, es el marcador idóneo para el control, seguimiento y detección de complicaciones en el paciente diabético.

Esta determinación orienta de la glucemia de los 3-4 últimos meses (vida media de los eritrocitos en plasma 120 días); valores superiores a los límites de referencia de HbA1c refleja un mal control de la enfermedad.

## Objetivo:

En base a la experiencia de que la media de los resultados de las HbA1c de los pacientes () en primaria es casi una constante; nuestro objetivo es calcular y estudiar si dicha media no es variable y puede utilizarse como control del funcionamiento de los equipos de hemoglobina glucosilada.

## MATERIAL Y MÉTODO

Durante un periodo de 6 meses de 2010 se registra la media (X) diaria de cada uno de nuestros equipos Adams TM A1c (HA-8160). El estudio se hizo en 58484 muestras de sangre total /EDTA Los resultados se han obtenido por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de intercambio iónico.

## RESULTADOS:

Se calcula la media mensual y semestral por equipo (HA1, HA2, y HA3) y la media global de los tres equipos.

	HA1	HA2	HA3	TOTAL/6MESES
Total (n)pacientes	19956	19086	19442	58484
Total	6,731	6,700	6,712	

X global pacientes/día = 6,71

X Total por equipo a lo largo de 6 meses.

## CONCLUSIONES:

La media diaria de los resultados de la HbA1c puede implementarse como un nuevo control del funcionamiento de los equipos de la hemoglobina glucosilada ya que:

- Es constante inter día y a lo largo del tiempo.
- Es constante entre diferentes equipos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 224

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DISCREPANTES EN LA DETERMINACIÓN DEL ANTÍGENO CARBOHIDRATO 19.9 (CA 19.9)

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Cerdá Urbano Helia, Terzán Molina Silvia, Grau Agramunt Margarida, Martínez Figueroa Susana, Clivillé Santano Núria, Calahorra Aguilar Verónica

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

Provincia: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: hessera@hotmail.com

## Introducción:

El CA 19.9 es el marcador tumoral utilizado principalmente para el seguimiento del cáncer de páncreas y de ovario (en este caso junto con el CA 125). Se ha descrito en pacientes oncológicos la presencia de moléculas de CA 19.9 con diferente grado de glicosilación. Esta heterogeneidad molecular es la responsable de que diferentes inmunoanálisis que utilizan distintos anticuerpos monoclonales obtengan resultados discrepantes en la concentración de CA 19.9. Esto obliga a que pacientes cuyo resultado de CA 19.9 (con nuevo método) no concuerde con los antecedentes obtenidos con método anterior sean reprocesados por dicho método para que el clínico evalúe con fiabilidad si existe un incremento o decremento del marcador.

## Objetivo:

Analizar los resultados discrepantes obtenidos de CA 19.9 por dos inmunoanálisis automatizados que utilizan diferentes anticuerpos monoclonales durante un período de 4 meses. Comprobar si en pacientes de los que disponemos de muestras seriadas en la seroteca los perfiles de incremento o decremento del marcador se mantienen en los dos métodos.

## Material y métodos:

Se han analizado un total de 36 muestras con sospecha de cáncer de páncreas o de ovario que daban resultados discrepantes por los dos analizadores. Además se han reanalizado un total de 22 muestras seriadas procedentes de 3 pacientes con cáncer de ovario de las cuales se disponía de una alícuota en seroteca. Los métodos evaluados son: e170 Modular® (Roche Diagnostics, Germany) y Architect Plus ci16200™ (Abbott, Germany). El equipo de Roche utiliza un inmunoanálisis electroquimioluminiscente en dos etapas con un anticuerpo monoclonal unido a fase sólida (micropartícula magnética-estreptavidina-biotina) y otro marcado con Rutenio. El equipo de Abbott utiliza un inmunoanálisis quimioluminiscente en dos etapas con un anticuerpo monoclonal unido a fase sólida (micropartícula magnética) y otro marcado con Ester de Acridinio.

## RESULTADOS:

En los 36 resultados discrepantes se observa que en 8 casos (22%) la concentración de CA 19.9 obtenida en el analizador e170 Modular® era como mínimo 2 veces superior a la obtenida en el Architect Plus ci16200™ y en los 28 restantes (78%) ocurre el proceso inverso. En algunos casos la dispersión tiene una gran trascendencia clínica ya que los resultados son muy dispares: ejemplo 1, CA 19.9 = 2485 KU/L (e170 Modular®) vs 727 KU/L (Architect Plus ci16200™); ejemplo 2, CA 19.9 = 2791 KU/L (e170 Modular®) vs 19827 KU/L (Architect Plus ci16200™).

Cuando se han reanalizado las 22 muestras seriadas de 3 pacientes con cáncer de ovario por los dos métodos se comprueba que aunque los resultados son ligeramente discrepantes los perfiles de incremento o decremento del marcador se mantienen.

## CONCLUSIÓN.

Se concluye que los pacientes oncológicos que están en seguimiento y presentan discrepancias con los resultados anteriores deberán procesarse por los dos métodos como mínimo durante un período de tiempo hasta que el clínico responsable se familiarice con los nuevos valores.

Debido a que los perfiles de incremento o decremento se mantienen en los dos métodos, ambos presentan la misma fiabilidad cuando se trata de iniciar el seguimiento de un nuevo paciente sin antecedentes del marcador CA 19.9.

## COMPARACIÓN DE MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DEL ANTÍGENO CARBOHIDRATO 19.9 (CA 19.9)

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* Terzán Molina Silvia, Cerdá Urbano Helia, Grau Agramunt Margarida, Mir Villanova M<sup>a</sup> Teresa, Freixa Martín Julia, García Pueyo Gema

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

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* sterzan@santpau.cat

### Introducción:

El CA 19.9 es el marcador tumoral utilizado principalmente para el seguimiento del cáncer de páncreas. También se utiliza junto con otros marcadores para el cáncer colorrectal, gástrico y de ovario principalmente. Para su determinación se utilizan inmunoanálisis automatizados que utilizan generalmente anticuerpos monoclonales frente a distintos epítomos de la molécula. En el caso del CA 19.9 estos anticuerpos pueden presentar diferentes afinidades debido a su heterogeneidad molecular (diferente grado de glicosilación del CA 19.9 observado principalmente en pacientes oncológicos).

### Objetivo:

Comparar los resultados obtenidos de CA 19.9 por dos inmunoanálisis automatizados que utilizan diferentes anticuerpos monoclonales y comprobar si es posible la transferencia de resultados al plantearse el cambio de analizadores.

### Material y métodos:

Se han analizado un total de 74 muestras por los dos analizadores: e170 Modular® (Roche Diagnostics, Germany) y Architect Plus ci16200™ (Abbott, Germany). El equipo de Roche utiliza un inmunoanálisis electroquimioluminiscente en dos etapas con un anticuerpo monoclonal unido a fase sólida (micropartícula magnética-estreptavidina-biotina) y otro marcado con Rutenio. El equipo de Abbott utiliza un inmunoanálisis quimioluminiscente en dos etapas con un anticuerpo monoclonal unido a fase sólida (micropartícula magnética) y otro marcado con Ester de Acridinio.

### RESULTADOS:

Los parámetros obtenidos al efectuar la recta de regresión lineal entre los dos métodos son: pendiente de la recta = 0,9105 (Intervalo de confianza al 95%: 0,6271-1,194); ordenada en el origen = 5,404 (Intervalo de confianza al 95%: -29,24-40,05) y coeficiente de correlación  $r = 0,60299$ .

Estos resultados nos indican que, aunque el intervalo de confianza de la pendiente incluya el 1 y el de la ordenada en el origen incluya el 0, existe una elevada dispersión de los resultados ( $r$  muy alejado de 1). Esta elevada dispersión entre los dos métodos afecta a un 18,9% (14/74) de los resultados. Analizando los 14 resultados discrepantes se observa que en 8 casos (10,8%) la concentración de CA 19.9 obtenida en el analizador e170 Modular® era como mínimo 2 veces superior a la obtenida en el Architect Plus ci16200™ y en los 6 restantes (8,1%) ocurre el proceso inverso. En algunos casos la dispersión tiene una gran trascendencia clínica ya que los resultados son muy dispares: ejemplo 1, CA 19.9 = 332,7 KU/L (e170 Modular®) vs 47,81 KU/L (Architect Plus ci16200™); ejemplo 2, CA 19.9 = 89,61 KU/L (e170 Modular®) vs 402,40 KU/L (Architect Plus ci16200™). Al analizar los resultados de CA 19.9 obtenidos en el control de calidad externo nacional (SEQC) e internacional (EQAS) se corrobora la dispersión de resultados entre los diferentes métodos (se establecen 3 grupos de métodos y los 2 equipos analizados pertenecen a grupos con diferentes medias). Esta dispersión es debida principalmente a la diferente especificidad de los anticuerpos monoclonales utilizados.

### CONCLUSIÓN:

Una vez realizada la comparación de métodos se verifica que la transferencia de resultados en el campo de los marcadores tumorales es muy compleja ya que en el 18,9% de los casos los resultados no son transferibles. Esto obliga a que durante un período de tiempo, en los pacientes con antecedentes que están en seguimiento de su proceso neoplásico, se determine el marcador tumoral por los dos métodos hasta que el clínico se familiarice con los nuevos valores.

## NIVELES DE PROGESTERONA Y VIFRICACIÓN DE OVOCITOS EN REPRODUCCIÓN ASISTIDA

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* María José Molina Mora, Jesús Fernandez Sanz, María Jiménez Mahillo, Leyre Herrero Grassa, David Agudo Garcillán, Fernando Bronet Campos, Sandra Pareja Marín.

*Centro de trabajo:* IVI Madrid

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* MariaJose.Molina@ivi.es

### Introducción:

La vitrificación es una técnica de criopreservación que permite la conservación de ovocitos y embriones en diversos tipos de pacientes, entre ellas se encuentran las pacientes con elevado nivel de progesterona.

La progesterona es una hormona esteroide implicada en el ciclo menstrual, el embarazo y la embriogénesis de seres humanos y otras especies. En reproducción asistida para que exista implantación embrionaria debe coincidir la ventana de implantación con el desarrollo embrionario. Se ha demostrado que los niveles de progesterona afectan a la ventana de implantación y con ello al éxito de los tratamientos de reproducción.

El objetivo del estudio es demostrar si en pacientes con progesterona mayor o igual a 1,5 ng/mL, es más recomendable vitrificar los ovocitos y hacer la transferencia embrionaria en otro ciclo con los niveles de progesterona adecuados (0-1 ng/mL), o por el contrario conviene seguir adelante con la técnica de inseminación indicada y transferir en ese mismo ciclo.

### Material y métodos:

Estudio retrospectivo realizado sobre 25 pacientes que llevaron a cabo un ciclo de estimulación entre enero y junio de 2010 y tuvieron el nivel de progesterona mayor o igual a 1,5ng/mL dos días antes de la administración de la HCG. El grupo de estudio está formado por 18 pacientes cuyos ovocitos (153) fueron vitrificados y desvitrificados con la técnica del Cryotop (Kitazato, Japan), y el resto de pacientes (7), forman el grupo control donde se siguió adelante con la técnica de inseminación adecuada (ICSI, FIV ó FIV/ICSI).

Ambos grupos se han comparado en cuanto a tasas de gestación e implantación embrionaria (sacos gestacionales/embriones transferidos) tras la transferencia. Se ha aplicado el test Chi2 para comparar porcentajes, y T de Student para comparar medias, considerándose significativas aquellas diferencias en las que  $p < 0.05$ .

### RESULTADOS:

De las 7 pacientes que a pesar tener una progesterona mayor o igual a 1,5 ng/mL siguieron a ciclo y transferencia embrionaria se canceló 1 (14,3%), de las 6 pacientes restantes tuvieron gestación bioquímica 2 (33%) y gestación clínica 2 (33%) obteniéndose una tasa de implantación del 16%. Estas 7 pacientes contaban con un edad media de 36,7 y una media de ovocitos de 12,4.

Por el contrario hubo 18 pacientes en las que se tomó la decisión de vitrificar sus ovocitos y realizar la inseminación y transferencia embrionaria en otro ciclo. Estas pacientes contaban con una edad media de 36,8 y una media de ovocitos vitrificados de 10,5. La tasa de cancelación en el ciclo de desvitrificación y transferencia embrionaria fue de 16,6%, la tasa de gestación bioquímica del 40% y una gestación clínica del 33%. Se obtuvo en estos ciclos una tasa de implantación del 20%.

No hay diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos.

### CONCLUSIÓN

El proceso de vitrificación de ovocitos es recomendable en aquellas pacientes en los que sus niveles de progesterona son elevados (mayor o igual a 1,5ng/mL) tras un ciclo de estimulación para cualquier técnica de fecundación in Vitro. La vitrificación nos permite realizar una transferencia embrionaria en un ciclo posterior con la situación idónea respecto a ventana de implantación, y con ello un aumento de sus posibilidades de gestación.

Aún siendo la vitrificación una técnica ventajosa en estas pacientes serían necesarios un mayor tamaño muestral y mas estudios para constatar nuestros datos.

## TROPONINA T ULTRASensible VERSUS TROPONINA I ULTRASensible

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* ÁNGELA AGUILAR MONTESINOS; CARMEN LUQUE SANCHEZ; M<sup>a</sup> DEL MAR VILORIA PEÑAS

*Centro de trabajo:* HOSPITAL DE VALME

*Provincia:* SEVILLA

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

### Introducción:

La troponina es un complejo compuesto por tres subunidades polipeptídicas: troponina I (cTnI), que inhibe la contracción muscular en presencia de calcio; la troponina T (cTnT) que conecta el complejo troponina con la tropomiosina y la troponina C (cTnC), fijadora de calcio. La cTnT fue descrita en 1989 y la cTnI en 1992, y en la actualidad son consideradas el estándar de oro dentro de los marcadores bioquímicos para el diagnóstico del daño miocárdico. La determinación de troponina se ha mostrado útil para el diagnóstico de síndrome coronario agudo, para detectar y evaluar lesiones cardíacas moderadas o severas, para diferenciar entre distintos tipos de dolor torácico y además presenta un importante valor pronóstico.

En el laboratorio de Urgencias de nuestro hospital se ha sustituido la determinación de cTnI ultrasensible por cTnT ultrasensible al haberse cambiado los equipos con motivo del último concurso.

## Objetivo:

Estudiar la concordancia entre los procedimientos de medida de cTnI y cTnT.

## MATERIAL Y MÉTODO

Se han estudiado un total de 119 muestras de plasma (heparina de litio). La troponina T se midió mediante electroquimioluminiscencia en el Cobas 6000 (Roche Diagnostics). La troponina I mediante quimioluminiscencia en el ECI (Orthoclinical Diagnostics). Los puntos de corte utilizados fueron para la troponina T: <0.014: normal; 0.014-0.1: seguir evolución; > 0.1: patológico. Para la troponina I: <0.034 : normal; 0.034-0.120: seguir evolución; > 0.120 patológico.

## RESULTADOS:

De los 119 casos hubo concordancia entre las dos determinaciones en 99 (83.2 %), es decir, clasificó en el mismo grupo a los pacientes. Hubo 20 casos discrepantes (16.8 %). De estos últimos, en 8 casos la troponina I fue patológica mientras que la troponina T indicaba seguir evolución. En 11 casos la troponina I fue normal mientras que la troponina T indicaba seguir evolución. En un caso la troponina I fue normal mientras que la troponina T fue patológica. Tras revisar las historias clínicas de los casos discordantes obtuvimos que de los 11 casos en los que la troponina I fue normal en 9 casos los pacientes no presentaron síndrome coronario agudo pero si presentaban patología concomitante que esta descrita en el aumento de Tn T: 3 pacientes presentaban hipertensión arterial, 2 insuficiencia renal crónica, 2 EPOC, 1 edema agudo de pulmón, 1 insuficiencia cardiaca por patología de válvula aórtica. Los 8 casos en los que la troponina I fue patológica mientras que la troponina T indicaba seguir evolución resultaron positivas para síndrome coronario agudo. El caso en el que sólo fue positiva la troponina T el paciente se diagnosticó de dolor torácico atípico y presentaba una importante insuficiencia renal crónica.

## CONCLUSIÓN

Existe una buena concordancia entre ambas troponinas. La troponina T, como indica la bibliografía, parece ser más sensible a otras patologías interferentes.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 228

## HOMA (RESISTENCIA A LA INSULINA) EN INDIVIDUOS SANOS NO OBESOS

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* CARMEN LUQUE SÁNCHEZ; ÁNGELA AGUILAR MONTESINOS; M<sup>a</sup> DEL MAR VILORIA PEÑAS

*Centro de trabajo:* HOSPITAL DE VALME

*Correo electrónico del primer firmante:* carmenluquesanchez@yahoo.es

## Introducción:

La homeostasis de la glucosa se mantiene dentro de los parámetros de la normalidad gracias a la estrecha y permanente intercomunicación entre los tejidos sensibles a la insulina (músculo, hígado y tejido adiposo) y la célula beta, de modo que cualquier cambio en la glucemia induce otro adaptativo en la célula beta. La disminución de la capacidad de la insulina para ejercer sus acciones biológicas es lo que se ha denominado Resistencia a la Insulina (RI). El método HOMA (Homeostasis Model Assessment) es un procedimiento de estimación indirecta, mediante cálculos matemáticos, de la Resistencia a la Insulina.

## Objetivo:

Relacionar el HOMA, como medida de la Resistencia a la insulina, con el índice de masa corporal, con distintas medidas antropométricas y con los porcentajes de masa grasa y magra en individuos sanos, jóvenes y no obesos.

## Material y Método

Se seleccionaron 44 individuos sanos, 29 hombres y 15 mujeres con un rango de edad de 20 a 59 años. Se midió la glucosa por fotometría en el Cobas C 711 (Roche Diagnostics), insulina por electroquimioluminiscencia en el E170 (Roche Diagnostics) y se toma nota del peso, talla, medidas antropométricas (diámetro de cadera, cintura, brazo y gemelo, pliegues bicipital, tricipital, escapular e iliaco) y se realiza una bioimpedancia (Tanita) para el cálculo de masa grasa y magra. Los resultados se analizaron mediante correlación múltiple de Pearson (paquete estadístico SSPSWIN).

## RESULTADOS:

1.- La resistencia a la insulina viene estrechamente correlacionada ( $r=0.97$ ,  $p<0.001$ ) con los niveles circulantes de insulina, mientras que los niveles de glucemia contribuyen sólo a la respuesta insulínica sólo en un 60% ( $r=0.58$ ,  $p<0.001$ ).

## CONCLUSIONES:

1.- No se observa que existan correlaciones de niveles de insulina, de glucosa ni de resistencia a efecto de la insulina (HOMA) con ninguna de las medidas antropométricas ni con los porcentajes de masa grasa o masa magra corporal (medidos por bioimpedancia).

2.- Esta falta de correlación en gente joven, sana y no obesa es distinta a la observada en individuos con patología metabólica y/o endocrina (obesidad, síndrome metabólico, diabetes, ovario poliquístico,...) en la que la resistencia periférica a insulina viene favorecida por el aumento de tejido graso.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 231

## IMPORTANCIA DE LA DETECCIÓN DEL ANTICUERPO DE HEPATITIS C EN DONANTES DE ÓRGANOS

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* Mauri María del Carmen 1, García-Tirador Francisco 1, Martínez-Peinado Antonio 2, Fernández-Riejos Patricia, Fabiani Fernando

1Laboratorio de Urgencias, H.U. Virgen Macarena

2Laboratorio de Hepatología, H. U. Virgen Macarena

*Centro de trabajo:* H. U. Virgen Macarena

*Provincia:* SEVILLA

*Correo electrónico del primer firmante:* mcmauri@telefonica.net

## Introducción:

En el Laboratorio de Urgencias de Bioquímica del Hospital Universitario Virgen Macarena se realiza la detección del anticuerpo de hepatitis B en pacientes donantes de órganos. Es crucial la especificidad de este ensayo, dado que de un resultado positivo o negativo se procederá a utilizar el órgano donado para trasplante. **Objetivo:** El **Objetivo:** de este trabajo es valorar la especificidad de los ensayos de determinación de anticuerpo de hepatitis C (ACVHC) que disponemos en nuestro laboratorio.

## Material y métodos:

La determinación de ACVHC en el Laboratorio de Urgencias de Bioquímica del Hospital Universitario Virgen Macarena se realiza mediante inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (Roche Diagnostics). La determinación de ACVHC en el Laboratorio de Hepatología del Hospital Universitario Virgen Macarena se realiza mediante inmunoensayo de quimioluminiscencia con diferente especificidad (Siemens Healthcare Diagnostics).

Hemos analizado 50 muestras de suero de mujeres con embarazo a término que se han recibido en el laboratorio de Urgencias de nuestro hospital. Todas ellas son muestras con resultado dudoso según el ensayo de determinación que se realiza en este laboratorio. Se determinó el ACVHC por las dos técnicas disponibles.

## RESULTADOS:

El resultado dudoso de ACVHC tras la realización de las dos técnicas implica realizar una carga viral. Este hecho ha supuesto rechazo de algunos de los órganos que podrían haber sido trasplantados.

## CONCLUSIONES:

Es necesario definir las interferencias que afectan a la especificidad de los distintos ensayos inmunológicos de detección de marcadores virales.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 241

## SCAMOUS CELLS CANCER (SCC)

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* Elena María Medina Álvarez, Rosa María Muñoz Vicente, Antonia Isabel Fuentes Fuentes y María Jose Expósito Álvarez

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria

*Provincia:* Santa Cruz de Tenerife

*Correo electrónico del primer firmante:* alberto@canarypack.es

## INTRODUCCION:

El antígeno del carcinoma de células escamosas es una proteína, con una fuerte homología a la familia de los inhibidores de proteasas conocido como serpinas. El SCC es un marcador principalmente de cérvix, pulmón, laringe y ano, siendo de interés como indicador pronóstico en la detección precoz de recidiva y en la monitorización terapéutica.

En pacientes con cáncer de cérvix el SCC se relaciona con el estadio, volumen tumoral y la afectación de ganglios linfáticos. Los resultados falsos positivos de SCC se asocian a insuficiencia renal, psoriasis, eccemas, pénfigo y tuberculosis.

## Objetivo:

Analizar la demanda del marcador tumoral SCC en el Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria durante el año 2010

## MATERIAL Y METODO:

El marcador a estudio se determinó en muestras de suero de 194 pacientes en un analizador Architect (Abbott S.L) mediante tecnología de inmunoensayo quimioluminiscente de micro partículas (CMIA).

## RESULTADOS:

De los 194 pacientes, 184 son mujeres y 10 varones.

El rango de edad: entre 31 y 82 años.

De las 184 mujeres un 74% provienen de la consulta de oncológica (oncológica ginecológica, radioterapia y médica) y los 10 varones de centros de salud.



## CONCLUSIONES:

En el cáncer de cuello uterino, el SCC se muestra como un excelente marcador con buena especificidad y de valor predictivo positivo. El valor del antígeno se correlaciona con el estadio y el tamaño tumoral, siendo estos dos factores importantes en el pronóstico de los pacientes en nuestro hospital donde se utiliza la relación que existe en carcinomas epidermoides de cérvix y la expresión del antígeno SCC para la detección precoz de las recurrencias y el control de la eficacia del tratamiento.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 247

## MEJORA DE LA CALIDAD SEMINAL DE MUESTRAS LAVADAS PROCEDENTES DE PACIENTES VHC +

Trabajo de: Salud Pública.

Autor/a/s: Adela Rodríguez Fernández, María Testillano González, Ana Aranz Pollatos, Marina Aragonés Barraga, Carlos López-Feijóo, David Agudo Gracillán, Fernando Bronet Campos

Centro de trabajo: IVI Madrid

Correo electrónico del primer firmante: tectivmadrid@ivi.es

### Introducción:

A pesar de que la transmisión del VHC vía sexual es poco eficiente, la presencia del virus en el plasma seminal ha sido demostrada en varios estudios.

Por ello los hombres portadores del VHC pueden tener hijos sanos gracias a técnicas como el lavado de semen, que consiste en la eliminación de todas las partículas virales del plasma seminal.

Está demostrado que someter un semen a un lavado disminuye sus calidad. Parámetros como morfología y movilidad se ven severamente afectados (Ozkavukcu S. et al, 2008).

En este trabajo pretendemos comparar 2 protocolos de trabajo diferentes, Protocolo A, el empleado hasta el 2008, en el que enviábamos las muestras a un laboratorio externo y el Protocolo B, el empleado actualmente, en el que el lavado se realiza en nuestra clínica.

La rutina de trabajo es la misma pero el envío al laboratorio externo llevaba implícita una congelación adicional.

El uso de Pentoxifilina (Ptx) denota la mala calidad de las muestras descongeladas. Si hay pocos espermatozoides móviles es conveniente añadir ptx para facilitar la búsqueda de espermatozoides vivos, ya que activa su movilidad. Únicamente se emplea si es absolutamente necesario.

### Material y método:

Desde el 2006 a la actualidad, se han hecho 50 ciclos de ICSI con semen lavado por infección de VHC en nuestra clínica.

Un 66% (33 ciclos) se han realizado con semen lavado fuera (Protocolo A) y un 34% (17 ciclos) han sido lavados en nuestro laboratorio (Protocolo B).

Se han hecho 39 lavados seminales, 24 en el laboratorio externo (protocolo A) y 15 en nuestra clínica (protocolo B).

La muestra se ha obtenido por masturbación y tras su licuefacción se realiza el recuento y la movilidad. El método de lavado es el descrito por Garrido N. et al, 2004. Consiste en un lavado, un gradiente triple, otro lavado y finalmente un swim-up. El recuperado se divide en dos alícuotas: una se congela y se envía a analizar mediante Nested RT-PCR, la otra se congela y se deja en cuarentena hasta confirmarse la negatividad del resultado de la PCR.

### RESULTADOS:

Ciclos con muestras de semen lavadas fuera, protocolo A (n=33): Tasa gestación bioquímica (TGB): 12%, Tasa gestación clínica (TGC): 16%, Tasa de implantación (TI): 8% y Tasa aborto clínico (TAC): 25% resultados de los ciclos realizados con muestra de semen lavada en nuestro laboratorio: (n=17) TGB: 37.5%, TGC: 25%, TI: 23% y TAC: 0% En un 52% de los ciclos con semen lavado con protocolo A, se ha necesitado usar ptx, mientras que en ningún ciclo con semen lavado con protocolo B ha sido requerido el uso de ptx.

### Conclusión:

El empleo del actual protocolo de lavado en las muestras de semen de parejas serodiscordantes permite evitar la doble congelación lo que se traduce en una conservación de los parámetros seminales que se traduce en mejorar los resultados de Gestación e Implantación. Aunque las diferencias no son significativas existe una clara tendencia que roza la significación. Estudios mas amplios serían necesarios para observar diferencias significativas

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 251

Disminución del consumo de determinaciones tras la instalación del modular Cobas 711

Trabajo de: Bioquímica

Autor/a/s: Dolores Rodríguez Martel, Marcos José Rodríguez del Rosario, María del Carmen Acevedo Gil, Adoración Díaz Jiménez, Iluminada Ramos Nuez

Centro de trabajo: HOSPITAL DE GRAN CANARIA DOCTOR NEGRÍN.

Correo electrónico del primer firmante: loly\_adj@hotmail.com

## RESUMEN:

**Introducción:** En noviembre del 2009 se procedió a la sustitución del Modular ANALYTICS SWA (DPP) por un modular COBAS 711 (711), ambos de Roche Diagnostics, debido al elevado número de muestras que se procesan en nuestro laboratorio y a que el DPP precisaba demasiados mantenimientos en los últimos meses. Como consecuencia de esto se realizaban un mayor número de calibraciones.

**Objetivo:** Valorar la disminución de calibraciones realizadas a lo largo de un año con su correspondiente disminución en el coste.

**Material y método:** Se comparan el número de calibraciones reales realizadas durante todo el año 2010 en el 711, con las calibraciones que se hubiesen realizado en el DPP, según nuestros protocolos de calibración, en 21 parámetros bioquímicos.

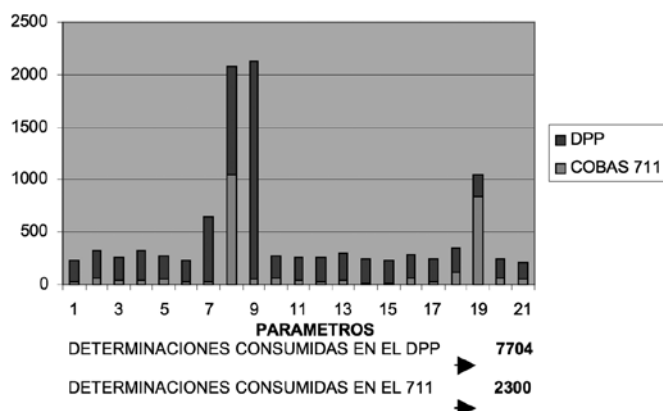
De los 21 parámetros, 19 son de calibraciones a dos puntos, en las que se gastan 4 determinaciones en cada calibración, y 2 de estas son de calibraciones completas, en las que se gastan 12 determinaciones por cada calibración.

No se considera el módulo ISE (iones: sodio, potasio, cloro) por ser similar en ambos equipos.

### RESULTADOS:

- |                                 |                                |
|---------------------------------|--------------------------------|
| 1. GLUCOSA                      | 12. GAMMA-GLUTAMIL TRANSFERASA |
| 2. UREA                         | 13. FOSFATASA ALCALINA         |
| 3. ÁCIDO ÚRICO                  | 14. LACTATO DESHIDROGENASA     |
| 4. CREATININA                   | 15. AMILASA                    |
| 5. PROTEÍNAS SÉRICAS            | 16. HIERRO                     |
| 6. CREATIN KINASA               | 17. COLESTEROL                 |
| 7. FOSFORO                      | 18. HDL-COLESTEROL             |
| 8. CALCIO                       | 19. TRIGLICÉRIDOS              |
| 9. BILIRUBINA TOTAL             | 20. PROTEÍNAS DE ORINA         |
| 10. ASPARTATO AMINOTRANS-FERASA | 21. ALBUMINA EN ORINA          |
| 11. ALANINA AMINOTRANS-FERASA   |                                |

### DETERMINACIONES CONSUMIDAS POR MODULAR



**Conclusión:** La sustitución del DPP por el 711, ha supuesto un descenso importante en el número de calibraciones realizadas, lo que se traduce en una disminución de las determinaciones en un 70% y, por tanto, en el gasto. La reducción en el número de calibraciones se debe a que en el 711 todos los módulos son de pipeteo y no de dispensación como ocurría en el DPP. Además en el 711 los reactivos vienen preparados en cassettes, desapareciendo, a su vez, el posible error preanalítico lo que confiere una mayor estabilidad a los reactivos a bordo.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 252

## UTILIDAD DE LA CUANTIFICACION DE CADENAS LIGERAS LIBRES EN SUERO EN EL ESTUDIO DE GAMMAPATIAS MONOCLONALES

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: M<sup>a</sup> Pilar Merino Rivilla, Concepción Vega Vargas, Esther Ocaña Pérez, Carmen Ocaña Ureña, M<sup>a</sup> Isabel Buitrago Melero

Centro de trabajo: Complejo Hospitalario de Jaén

Provincia: Jaén

Correo electrónico del primer firmante: pmmaritu@hotmail.com

### INTRODUCCION:

Las gammopatías monoclonales engloban un amplio espectro de diferentes entidades en las cuales el pilar del diagnóstico y de su seguimiento es la identificación y caracterización de la proteína monoclonal. El aumento de los niveles de las cadenas ligeras de inmunoglobulina es un evento frecuente en estos pacientes. Recientemente, la introducción de un nuevo inmunoensayo sérico para la determinación de las cadenas ligeras libres kappa y lambda ha proporcionado una nueva herramienta para el cribado, diagnóstico, pronóstico y seguimiento del mieloma múltiple y otras discrasias de células plasmáticas. Al día de hoy,

se recomienda su utilización en todas las gammopatías monoclonales en el momento del cribado, diagnóstico y pronóstico

#### Objetivo:

Analizar la utilidad de la cuantificación de cadenas ligeras libres en el cribado de gammopatías monoclonales, comparando con el proteinograma en gel de agarosa e inmunofijación selectiva.

#### MATERIALES Y METODOS:

Se analizaron 45 sueros derivados al Laboratorio de Inmunología con sospecha de gammapatía monoclonal, a los cuales les realizamos: proteinograma por electroforesis en gel de agarosa (Microgel, Menarini), determinación nefelométrica (BN-II, Siemens) de los niveles de kappa libre en suero y lambda libre en suero (Freelitz®, The Binding Site Ltd), e inmunofijación selectiva (Hydrasys, Sebia).

#### RESULTADOS:

El 48,8% (22/45) de los pacientes presentó un cociente kappa libre /lambda libre en suero patológico (Valores de referencia 0,26-1,65) y en todos los casos se detectó componente monoclonal en el proteinograma e inmunofijación. En el 20% (9/45) de los casos se observó cociente kappa libre en suero /lambda libre en suero dentro de la normalidad, sin embargo se observó componente monoclonal en proteinograma o inmunofijación. El análisis de los 9 casos mostró los siguientes resultados 1 caso de gammapatía biclonal (IgA lambda + IgA kappa), 4 casos de gammapatía monoclonal de significado incierto y 4 casos de gammapatía monoclonal con insuficiencia renal (con aumento de significativo de kappa y lambda libre en suero)

#### CONCLUSIONES:

La cuantificación de cadenas ligeras kappa y lambda libres en suero proporciona una herramienta de alta sensibilidad para el diagnóstico de gammopatías monoclonales, aunque hay que tener en cuenta algunas consideraciones: 1) Siempre hay que valorar el resultado del cociente kappa libre/lambda libre en suero junto con la función renal del paciente y modificar los valores de referencia en estos pacientes (0,37-3,1). 2) Hay que considerar la posibilidad de resultados normales de cociente kappa libre/lambda libre en suero en gammopatías biclonales y en GMSI.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 259

### CADENAS LIGERAS LIBRES EN SUERO: UTILIDAD EN EL DIAGNOSTICO, SEGUIMIENTO Y TRATAMIENTO.

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: CONSUELO LAPUEBLA VIEL, JUDITH MARIA GONZALEZ ALVARADO, FRANCISCA BERRAL BAENA

Centro de trabajo: UGC HOSPITAL DE VALME SEVILLA

Correo electrónico del primer firmante: mecoh@hotmail.es

#### Introducción:

Cuando prolifera un clon de células plasmáticas puede modificar la relación kappa / lambda en suero. La corta vida media, fácil cuantificación y elevada sensibilidad del cociente de cadenas ligeras libres en suero lo convierten en una herramienta adecuada para el diagnóstico, pronóstico, y seguimiento de gammopatías monoclonales, y patologías donde no se observa secreción de componente monoclonal (MM Bence Jones, Amiloidosis, MM no Secreto).

#### Objetivo:

Evaluar el comportamiento del nuevo test de cadenas ligeras libres en pacientes a los que se había solicitado cadenas ligeras totales y/o cadenas ligeras libres en orina, comparando los cocientes séricos k/l libres, K/L totales, y libres en orina.

#### Material y métodos:

Analizamos 123 muestras de suero y 68 de orina de 106 pacientes procedentes del servicio de Hematología, mayoritariamente, y otros Servicios como Reumatología ó Digestivo. Algunos pacientes tenían diagnósticos bien establecidos, MM de inmunoglobulina intactas(25), MM cadenas ligeras(4), Gammapatía Monoclonal de significado incierto(19), Linfoma Hodking y No Hodking 12), M/Waldstrom(3), sospecha de Amiloidosis(1), patología reumática diversa(10), enfermedades hepáticas(2) otros, procesos poco representados en esta muestra. Se realizó EC a todas las muestras (Capillarys Sebia), si era necesario Inmunotipado, Inmunofijación en suero u orina (equipo de Sebia). En las 123 muestras cuantificamos diversos parámetros bioquímicos como creatinina, IG, Proteínas etc, Cadenas Ligeras Libres, kappa y lambda (k y l), CL Totales, Kappa y Lambda, (K y L), en las muestras de orina CL Libres, kappa y lambda Libre (ko y lo), y sus ratios correspondientes. Las CL séricas Freelite (Binding Site), y las CL en orina (NewScientific Company), se determinan por nefelométricamente (BNII, Siemens). Las cadenas ligeras totales séricas se cuantifican inmunoturbidimétricamente (Cobas 501 Roche Diagnostic). Adaptamos los rangos de referencia de la bibliografía: k/l sérico: [de 0,26-1,65] y 0,37-3,1] pacientes con insuficiencia renal, K/L total sérica: [1,5-2,5] y en orina k/l: [0,5-8].

#### RESULTADOS:

Con CM en suero, 56 muestras, (51 pacientes), presentan el 93% de los cocientes k/l libre y 91% de K/L totales, alterados. Sin CM actual, pero en tratamiento por MMII, no presentan alteración de los cocientes k/l, ni K/L, 14 muestras(8 pacientes), Mieloma BJ, estando en tratamiento ninguno presenta proteinuria, el 71% tiene cociente k/l alterado, y sólo el 14% K/L alterado, 7 muestras(4 pacientes). Sospecha de AL 100% de cociente

k/l y K/L alterados, 2 muestras(1 paciente), 43 muestras(41 pacientes) que no presentan CM y que no estaban incluidos en los grupos anteriores, el 18% tiene cociente k/l, y el 21% K/L alterados. Orinas: 68 muestras de 64 pacientes les determinamos k/l libres, 30 que tenían CM en suero, el 2,3% tenían cociente k/l, y las 38 restantes sin actual CM en suero, únicamente 1 de las dos existentes (1,06%) tenía cociente alterado y correspondía a una sospecha de amiloidosis. Las 3 muestras pertenecientes a 3 MBJ que habían sido anteriormente positivas y actualmente no, estaban en tratamiento.

#### CONCLUSIONES:

En las muestras con componente monoclonal en suero el cociente de cadenas ligeras libres en suero presenta una sensibilidad similar al cociente de cadenas ligeras totales en suero. Los pacientes de MM en tratamiento actual han normalizado sus cocientes tanto libres como totales. En el resto de los pacientes sin componente monoclonal, no incluido en las patologías anteriores, presentan cociente k/l y K/L alterados en un 18% y 21% respectivamente. Para MMBJ es más sensible el cociente k/l libre en suero. En las sospechas de Amiloidosis resultados alterados los tres cocientes determinados anteriormente.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 264

### ENOLASA NEUROESPECIFICA (NSE) Y PROTEINA S100 COMO MARCADORES DE DEMENCIA SENIL

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: CELEDONIA AGUADO FRAILE, CARMEN CASADO HERNANDEZ, PAULA ROMERO GARCIA, MARIA FELICIDAD MARTIN ANDRES, FLORA SIERRA PUPARELLI, JUAN CARLOS RODRIGUEZ PEREZ, CONSUELO BOYERO SIERRA, MARIA LUISA HERNANDEZ CERCEO.

Centro de trabajo: (HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA)

Correo electrónico del primer firmante: caguado@saludcastillayleon.es)

#### INTRODUCCION:

La enolasa neuroespecífica, NSE, y la proteína S 100 son proteínas específicas del sistema nervioso central y periférico. Son liberadas al torrente sanguíneo después de un episodio de daño neuronal. Hemos estudiado la evolución de dicho daño o deterioro en una serie de pacientes para ver los efectos que produce dependiendo de la edad del sujeto.

#### Objetivo:

Valorar S100 y NSE como marcadores del deterioro mental fisiológico debido a la edad. Así como establecer valores de referencia según grupo de edades.

#### MATERIAL Y METODOS:

Se analizó S100 y NSE a una población ambulatoria de 808 personas, pertenecientes a un centro de salud del oeste de Salamanca. Las técnicas de NSE y S 100 se realizaron en COBAS 411 ROCHE por quimioluminiscencia en suero. Las concentraciones venían dadas en nanogramos/ml para NSE y microgramos /L para S100.

#### RESULTADOS:

Se hicieron 3 grupos de edad, grupo 0 < 64 años, grupo 1 de 64-74 años y el grupo 2 > 74. La distribución era no normal tanto para el total de la población como para los grupos que hicimos por edad. Hallamos las medianas para cada grupo y los percentiles entre 25 y 75 para establecer rangos normales.

GRUPO	S100	NSE
CAT.0-1 N validos perdidos	59 0	59 0
Mediana	.058000	13.7500
Percentiles	.044000 .070000	10.9300 19.3000
CAT 2 N validos Perdidos	394 3	395 2
Mediana	.063000	12.3900
Percentiles	.046000 .086000	9.8200 14.9600
CAT 3-4 N Válicos perdidos	354 2	354 2
Mediana	.064000	12.460
Percentiles	.047000 .093000	9.7375 15.0800

Para los menores de 64 años los valores normales son 0.044-0.070 microgramos/L para S100 y 10.93-19.3 nanogramos/L para NSE.

Para la población de 64-74 años los valores normales son 0.046-0.086 u para S100 y 9.82-14.96 u para NSE.

Para los mayores de 74 años los valores normales son 0.047-0.093 u para S100 y 9.74-15.08 u.

Comparando el grupo 0 con grupo 1 obtenemos  $p < 0.008$  para NSE, mientras que no encontramos diferencias significativas para S100. Si comparamos el grupo 0 con el 2 tanto la NSE como la S100 presentan diferencias significativas con  $p < 0.013$  y  $p < 0.021$  respectivamente. El grupo 1 y 2 no presentan diferencias significativas.

## CONCLUSIONES:

Hemos encontrado diferencias significativas para S100 y NSE entre los menores de 64 años y mayores de 74 años. Cuando hemos establecido los valores normales según rango de edad, observamos que solo la S100 evoluciona en ascenso con respecto a la edad, por lo que consideramos este parámetro más adecuado para valorar el deterioro mental debido a la edad.

Resumen Comunicación Científica -PANEL

Número: 265

## NSE (ENOLASA NEUROESPECÍFICA) Y S-100 MARCADORES DE LA GRAVEDAD EN TCE

Trabajo de: Bioquímica

Autor/a/s: MARIA FELICIDAD MARTIN ANDRES, CARMEN CASADO HERNANDEZ, PAULA ROMERO GARICA, FLORA SIERRA PUPARELLI, CELEDONIA AGUADO FRILE, JUAN CARLOS RODRIGUEZ PEREZ, MARIA LUISA HERNANDEZ CERCEÑO.

Centro de trabajo: (HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA)

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

## INTRODUCCION:

La causa principal de injuria cerebral son los traumatismos provocados por accidentes de trabajo, accidentes deportivos, violencia y caídas. También son causas de esta patología la hipoxia y los desórdenes neurodegenerativos.

Aproximadamente un 12% de los ingresos de pacientes con trauma y algún riesgo de injuria cerebral no son correctamente diagnosticados haciendo uso de la metodología clásica y por este motivo pueden desencadenarse fatalmente. Con la incorporación a los protocolos de una prueba bioquímica a pacientes con riesgo de injuria post trauma podemos reducir sensiblemente el tiempo de espera y de diagnóstico en urgencias.

## Objetivo:

Evaluar el interés de estos marcadores en el descubrimiento de la intensidad y gravedad de un TCE cuando este ingresa en el hospital normalmente por vía urgente.

## MATERIAL Y METODOS:

Se determinaron 87 muestras: 47 controles frente a 40 pacientes de los cuales 11 no tienen TCE, 14 presentan TCE de leve a moderado y el resto 15 pacientes muestran un TCE grave. El análisis de NSE y S-100 en COBAS 411 ROCHE (quimioluminiscencia). Las concentraciones las obtuvimos en nanogramos/ml y microgramos/L respectivamente.

## RESULTADOS:

Población distribución no normal tanto en la población total como en las tres categorías en las que se fragmentó. (medianas y percentiles). Se agrupan 3 categorías cat=0 están incluidos los controles y los pacientes sin TCE apreciable ya que no resultaban significativamente diferentes  $p > 0.05$  para los dos marcadores. Cat1 los TCE de leves a moderados y cat los TCE graves. Se calcularon medianas y percentiles para cada categoría

Estadísticos

CAT	N	Válidos	NSE	S100
CONTROL+NORMALES		Perdidos	58	58
			0	0
Mediana			22.0650	.071000
Mínimo			8.06	.0340
Máximo			77.18	9.6300
Percentiles	5		12.5695	.040800
	95		61.2440	.678750
TCE LEVEL A MODERADA		Válidos	14	14
		Perdidos	0	0
Mediana			29.6650	.355000
Mínimo			11.78	.0680
Máximo			61.88	2.0500
Percentiles	5		11.7800	.068000
	95		61.8800	2.050000
GRAVE		Válidos	15	15
		Perdidos	0	0
Mediana			54.5400	3.270000
Mínimo			15.00	.0550
Máximo			165.80	17.6500
Percentiles	5		15.0000	.055000
	95		165.8000	17.650000

Se realizó la prueba Mann-Wenyer para comparar las tres categorías, resultó que la S-100 era significativa en todos los casos, resultando una  $p < 0.000$ . Cuando comparamos cat=0 con cat: en el caso de la NSE la  $p < 0.385$  por lo que resulta no significativo; entre cat0 y cat2 tenemos una S100 con  $p < 0.000$  y NSE  $p < 0.001$  que resultan ser los dos grupos más diferenciados; entre la cat1 y cat2 la S100 es significativamente diferente con una  $p > 0.002$  y la NSE  $p < 0.046$  resultando una diferencia muy débil.

## CONCLUSIONES:

S-100 resulta muy útil para diferenciar tanto los TCE leves de los moderados y de los graves, como de los pacientes sin traumatismo, mientras que la NSE no diferencia los controles de los traumatismos leves, diferencia bien los casos graves con respecto a los

negativos y diferencia con escasa significación entre los leves moderados y los graves, por lo que consideramos resulta más interesante la determinación de S-100

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 266

## Comparación entre Paragon CZE 2000 versus V8 (Helena Biosciences) en la detección de bandas monoclonales.

Trabajo de: Bioquímica

Autor/a/s: García Fernández Mónica, Prieto Grueso Montserrat, Esteban Pepió M<sup>a</sup> Angeles, García Guantes Esther y Carcas Espinosa Luisa

Centro de trabajo: Hospital Universitario Vall d'Hebron (Barcelona)

Correo electrónico del primer firmante: monicgar2004@yahoo.es

## Introducción:

La electroforesis capilar de zona (CZE) es una técnica que separa las proteínas séricas humanas, según sus características físico-químicas, en cinco fracciones distintas y bien resueltas. Su principal aplicación es para el estudio de gammapatías monoclonales, visualizando en el proteinograma bandas monoclonales. Cuando se observa una imagen dudosa respecto a un componente homogéneo, se realiza una inmunofijación para el diagnóstico.

## Objetivos:

En un estudio previo calculamos el porcentaje de componentes homogéneos confirmados por inmunofijación, del total de las muestras enviadas con imagen dudosa en fracción beta y/o gamma, de los proteinogramas realizados en el analizador Paragon CZE 2000. Debido al cambio de analizador V8 (Helena Biosciences), hemos querido comprobar si el porcentaje de falsos positivos hallados coinciden con el estudio anterior.

## MATERIAL Y METODOS:

Se revisa el resultado de inmunofijación de 213 proteinogramas con imagen dudosa de componente homogéneo en beta y/o gamma, procesados en cuatro meses desde octubre del 2010 hasta enero del 2011, en el V8. Se calcula el porcentaje de falsos positivos en el V8 comparándolos con los del estudio realizado en el Paragon que en este caso fueron 398 proteinogramas con imagen dudosa. Para las inmunofijaciones se utiliza un analizador Hydrasys de (Sebia).

## RESULTADOS:

### IMAGEN DUDOSA FRACCIÓN BETA:

En la revisión de 198 muestras analizadas en Paragon CZE 2000 se obtuvieron los siguientes resultados el 74% de las muestras fueron negativas, un 24% tenían un componente monoclonal y un 2% presentaban una pequeña intensificación en la que se recomendaba repetir el estudio en unos 3-6 meses para ver la evolución d la imagen. En las 91 muestras analizadas en el V8 (Helena Biosciences) en el que se obtuvieron los siguientes resultados el 75% de las muestras fueron negativas, un 20,8% tenían un componente monoclonal y un 3,2% presentaban una pequeña intensificación en la que se recomendaba repetir el estudio en unos 3-6 meses para ver la evolución de la imagen.

### IMAGEN DUDOSA FRACCIÓN GAMMA:

En la revisión de 200 muestras analizadas en Paragon CZE 2000 se obtuvieron los siguientes resultados el 53% de las muestras fueron negativas, un 31% tenían un componente monoclonal y un 15% presentaban una pequeña intensificación en la que se recomendaba repetir el estudio en unos 3-6 meses para ver la evolución de la imagen. En las 122 muestras analizadas en el V8 (Helena Biosciences) en el que se obtuvieron los siguientes resultados el 45% de las muestras fueron negativas, un 50% tenían un componente monoclonal y un 4,9% presentaban una pequeña intensificación en la que se recomendaba repetir el estudio en unos 3-6 meses para ver la evolución d la imagen.

## CONCLUSIONES:

En la comparación de los autoanalizadores Paragon CZE 2000 versus V8 (Helena Biosciences) observamos que en la fracción beta prácticamente obtenemos los mismos resultados, si embargo en la fracción gamma se observa una mayor sensibilidad en la detección de componentes monoclonales en el autoanalizador V8 (Helena Biosciences). Las nuevas tecnologías nos dan una apreciación visual más acertada en el envío.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 270

Caso clínico de Glomerulonefritis rápidamente progresiva de tipo I

Trabajo de: Bioquímica

Autor/a/s: Cristina García Guzmán, Teresa Figueroa Montesinos, Elena García García, Lorena Benítez Hernández, Lorena Roldán Muelas, Alicia Teresa Pelaez Muñoz, Cristina Salvador Amuedo

Centro de trabajo: Hospital del Tajo (Aranjuez) Servicio: Laboratorio de Urgencias BR Salud

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<sup>+</sup> 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 Selenia 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.

están implicados: A) Factores endógenos (Genéticos: acidosis tubular renal, cistinuria e hiperoxaluria primaria, enfermedades metabólicas; Raza: caucásicos y euroasiáticos; Edad: adultos mayores de 40 años y Sexo: más frecuente en varones). B) Factores exógenos (Geográficos, factores climáticos y estacionales, alimentación, profesión y clase social). Puede ser suficientemente grande para producir obstrucción o lo bastante pequeño para ser eliminado por la orina. En España presenta una prevalencia del 4.16% y una incidencia del 0.27%. Tiene un alto riesgo de recurrencias. Es por ello que un buen análisis morfológico-estructural como primer paso es fundamental para el inicio de un tratamiento y así poder evitar la formación de un nuevo cálculo en un futuro.

## Objetivo:

Realizar una descripción macroscópica, morfológica y estructural de los cálculos renales diagnosticados más frecuentemente en el Hospital Germans Trias i Pujol de Badalona, Barcelona.

## Material y métodos:

Estéreo-microscopio óptico de luz reflejada (60x) con zoom, pinzas, mortero y pistilo.

## RESULTADOS:

Litiasis oxalática: Altamente recidivante. Fácil de expulsar. Puede ser de oxalato cálcico monohidratado, más conocido como Whewellita. Son de pequeño tamaño, redondeados, color marrón oscuro, duros al corte y compuestos por formas cristalinas en disposición radial. Hay dos tipos: papilar, con una zona convexa y otra cóncava donde se encuentra la Placa de Randall y de cavidad, cuya superficie puede ser lisa o con algunas prolongaciones denominadas por algunos autores como Jack Stones.

También encontramos otra variante, la litiasis de oxalato cálcico dihidratado, conocida como Weddellita. Su formación y crecimiento es más rápido que el monohidratado. Menos compacta, color ámbar, formada por cristales en forma de hojas yuxtapuestas.

Es frecuente encontrar litiasis de naturaleza mixta en la cual se puede apreciar los dos tipos de litiasis oxalática, monohidratado y dihidratado. Al corte, generalmente presentan una disposición radial. Pueden ser de origen papilar o de cavidad.

Litiasis úrica: Color anaranjado, fundamentalmente en su interior. Diversos tamaños y dureza intermedia. Se forman en orinas con pH muy ácidos. Superficie rugosa o en capas concéntricas y disposición radial. Existen dos variantes:

Anhidro: Compactos, redondeados de color anaranjado y superficie lisa. Estructura en capas concéntricas. Semejante a un canto rodado

Dihidratado: Forma irregular. Estructura granuloporosa con superficie lisa de estrías y huecos.

Mixto: Estructura granuloporosa hacia el centro y capas concéntricas en la periferia.

Litiasis fosfática: Están formados por distintas variedades de fosfato. Son de cavidad.

Brushita: Color blanquecino, pequeños. Pueden ser puros o con fosfato cálcico (en el núcleo). Estructura con cristales grandes, alargados y puntiagudos.

Carbonapitita: Cálculos grandes, coraliformes, de color blanco y dureza intermedia. Presenta capas concéntricas muy compactas, que evidencian distintas fases de crecimiento. Requiere estudio por espectrometría de infrarrojos por ser difícil su identificación macroscópica. Cálculos de cavidad.

Hidroxiapatita: Cálculos de pequeño tamaño de color blanco, blandos al corte y con estructura granuloporosa.

Litiasis infectiva: Producidos como resultado de una infección urinaria.

Estruvita: Tamaño grande. Color gris, olor desagradable. Al corte son duros y con estructura granuloporosa.

Urato amónico: Son cálculos de tamaño mediano o pequeño, color gris, duros al corte y estructura granuloporosa con cristales en forma de aguja o redondeados.

Litiasis cistínica: Aparecen en enfermos cistinúricos. Son cálculos de cavidad que crecen rápidamente. Color amarillento o marrón muy claro, superficie irregular y formas diversas. Duros al corte y estructura granuloporosa.

## Conclusión:

El análisis y estudio de los cálculos urinarios es un paso esencial para el examen y tratamiento inicial del paciente aquejado de litiasis renal. Para clasificar a cada individuo en una determinada forma clínica y poder empezar su tratamiento es necesario no sólo una descripción macroscópica del cálculo urinario sino también conocer su composición, para lo cual serán necesarias diferentes técnicas como la espectrometría de infrarrojos o la química analítica.

Debido a que la litiasis fosfática (brushita) y la litiasis cistínica son poco frecuentes en el hospital, mencionaremos su morfología-estructural y se añadirán algunas fotografías extraídas de la bibliografía.

Bibliografía: Aspectos médico-analíticos de la Litiasis urinaria recidivante: bases etiopatogénicas, diagnóstico bioquímico, análisis de cálculos, tratamiento médico, atlas fotográfico / Julio Lázaro Castillo, Zaragoza 2010.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 274

## VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA DETERMINACIÓN SIMULTÁEA DE GABAPENTINA (GBP) Y PREGABALINA (PGB) EN PLASMA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA Y DETECCIÓN POR FLUORESCENCIA (HPLC-Flu)

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Nicolás de la Puente, José Manuel; Gutiérrez Currás, Julia; Veci Rueda, Pilar

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 273

## LITIASIS URINARIA: ANALISIS MORFOLÓGICO-ESTRUCTURAL.

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: ELISABET PEREZ NIEVES, EVA MARIA IGLESIAS ALVAREZ, VANESSA BARRAGÁN LÓPEZ, JAUME BARALLAT MARTÍNEZ DE OSABA, CONSUELO LÓPEZ GARCIA, INGRID VILAJUANA LÓPEZ, YOLANDA ALBA MACÍAS.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO GERMANS TRIAS I PUJOL, LABORATORIO URGENCIAS DE BIOQUÍMICA

Provincia: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: asiel15476msn.com

## Introducción:

La litiasis urinaria es una patología muy frecuente que consiste en la formación de uno o varios cálculos de sales minerales en cualquier parte del aparato urogenital. En su formación

*Centro de trabajo:* Laboratorio Farmacología Clínica. Hospital Universitario "Marqués de Valdecilla"

*Provincia:* Cantabria

*Correo electrónico del primer firmante:* jnicolas@humv.es

#### **Introducción:**

La GBP y la PGB son dos fármacos utilizados en el control del dolor y en terapéutica antiepileptica. La medición de los niveles plasmáticos puede ser de utilidad para el control crónico del tratamiento y el ajuste de las dosis, tanto para mejorar la eficacia como para prevenir efectos adversos. Sin embargo no existe ningún procedimiento inmunoanalítico para la determinación rápida de las concentraciones, y son sustancias que tampoco presentan absorción de luz ultravioleta (en espectrofotometría).

#### **Objetivo:**

Presentar un procedimiento sencillo para la determinación de GBP y PGB simultáneamente, mediante una técnica de cromatografía líquida de alta precisión y detección de fluorescencia (HPLC-Flu), con derivatización de las muestras.

#### **Material y métodos:**

las muestras, a las que se le añadió etanolamina como estándar interno, fueron desproteinizadas mediante ácido sulfosalicílico 5%, y derivatizadas con solución o-phtalaldehído-2- mercaptoetanol (OPA-2MCE). Se analizaron por HPLC con detector de fluorescencia, y los resultados se integraron por el procedimiento de calibración con estándar interno. Para la validación se exploraron los siguientes aspectos: linealidad (en el intervalo de concentraciones de 1,5 mg/ml a 48 mg/l), precisión (intra e interanálisis de controles de concentración 5, 10 y 20 mg/L), exactitud, recuperación, y límite de cuantificación.

Para la realización de los cálculos de forma automatizada y para el posterior almacenamiento de los resultados, se empleó el programa informático Excell de Microsoft.

#### **RESULTADOS:**

Linealidad: tanto la PGB como la GBP cumplieron el criterio de linealidad elegido.

Precisión: PGB; C.V. intranálisis: C5—11,8; C10—6,41; C20—5,78. C.V. interanálisis: C5—6,63; C10—4,02; C20—2,6. GBP; C.V. intranálisis: C5—15,1; C10—8,71; C20—4,98. C.V.

interanálisis: C5—6,24; C10—4,42; C20—5,08. Exactitud: la inexactitud se mantuvo en valores menores de + 10% en todas las muestras excepto una de GBP. Recuperación: la recuperación media de la PGB fue del 97% y para la GBP del 78%. Límite de cuantificación: se utilizó como criterio el valor por debajo del cual el coeficiente de variación de las muestras replicadas supera el 20%. Se analizaron quintuplicados de muestras con concentraciones bajas (1,2,3,4,5 mg/L) GBP y PGB, se hicieron análisis en tres días diferentes de cada uno de ellos. El límite de cuantificación fue de 0,8 mg/L para la PGB y de 1 mg/L para la GBP.

#### **CONCLUSIONES:**

Se ha diseñado una técnica rápida para determinar las concentraciones de GBP y PGB en las muestras de pacientes, con el objetivo de monitorizar su tratamiento; La técnica propuesta tiene una fiabilidad adecuada para la utilización de la misma.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

**Número: 276**

### **Estudio de La Proteína C Reactiva y de la Procalcitonina en el laboratorio de urgencias entre los meses de Enero y Junio del 2010**

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* Bolaños Macías Rosa Delia, Marrero Marrero Pino, Díaz Ramos Rubén, Navarro Romero Mercedes

*Centro de trabajo:* Complejo Hospitalario Universitario Insular-Materno Infantil de Gran Canaria

*Correo electrónico del primer firmante:* : rosiboma@terra.es

#### **Introducción:**

La Proteína C Reactiva (PCR) es una proteína producida por el hígado, un reactante de fase aguda cuyo valor se eleva a las pocas horas cuando hay inflamación en todo el cuerpo, en lesiones tisulares como infecciones, inflamaciones y neoplasias malignas.

La procalcitonina (PCT) es un péptido precursor de la calcitonina, en condiciones normales se sintetiza en pequeñas cantidades en las células C de la glándulas tiroides y en células neuroendocrinas del pulmón. Sus niveles en sangre se elevan en situaciones de infección bacteriana severa y sepsis, sintetizándose en órganos tan dispares como bazo, hígado (macrófagos y monocitos), testículos, grasa o cerebro.

#### **Objetivos:**

Comprobar la utilidad de la Proteína C Reactiva frente a la Procalcitonina en los pacientes que se atienden en el Hospital Materno Infantil.

#### **Material y métodos:**

Se estudian durante los meses de Enero a Junio de 2010 las muestras de 1559 pacientes de las cuales 917 fueron positivas (PCR>1), que acuden al Servicio de Urgencias del Hospital Materno Infantil en las que se realizan las determinaciones de Proteína C Reactiva (mg/L) y Procalcitonina (ng/ml) en un autoanalizador COBAS 6000 ROCHE® DIAGNOSTICS y los resultados obtenidos se comparan mediante Regresión Lineal utilizando el programa estadístico Excel.

#### **RESULTADOS:**

La concentración de Proteína C Reactiva varió entre 1 mg/L y 53.81 mg/L mientras que la Procalcitonina entre 0.03 ng/ml y 100 ng/ml. El coeficiente de correlación obtenido fue R2= 0.1937

#### **CONCLUSIONES:**

El valor de R2 obtenido no se aproxima a 1 por lo que no parece que exista correlación directa entre los valores de la Proteína C Reactiva y la Procalcitonina.

En los casos que la Proteína C Reactiva está más elevada (PCR>10) aparece concordancia con los valores elevados de Procalcitonina R2=0.77 Pero a valores intermedios de Proteína C Reactiva la Procalcitonina no se eleva de manera estadística significativa.

Recomendamos utilizar tanto la Proteína C Reactiva como la Procalcitonina para el diagnóstico de sepsis, ya que la Proteína C Reactiva se eleva de manera más inespecífica.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

**Número: 277**

### **ICTERICIA OBSTRUCTIVA POR ANEMIA DE CÉLULAS FALCIFORMES**

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* JOSEFA MORAGA ALCAZAR; CARMEN PILAR DIAZ ALVAREZ; ANA MARIA BASTANTE RUBIO; ANA ISABEL ESPINOZA SAAVEDRA; VANESA FERNANDEZ ARIAS; MARIA COLADO SIMON; MARIA TRINIDAD GALLEGU BELLON; JUAN DE DIOS RUIZ DE LA HERMOSA ALCOLAO.

*Centro de trabajo:* SERVICIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS, HOSPITAL GENERAL DE CIUDAD REAL

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

#### **Introducción:**

La ictericia se presenta por una coloración amarillenta de la esclerótica, piel y mucosas producida por un aumento de los niveles de bilirrubina >2.5 mg/dl. Las causas de la ictericia son muy variadas, pero la obstructiva (colestasis extra-hepática) representa alrededor del 70% de los casos totales de ictericia. La ictericia obstructiva se engloba dentro de las ictericias mixtas (Bilirrubina Conjugada >30% de la Bilirrubina Total), donde además de existir hiperbilirrubinemia existe una alteración de las pruebas de la función hepática (transaminasas, fosfatasa alcalina, GGT, y pruebas de coagulación).

#### **Objetivos:**

Presentamos un caso clínico de una paciente que acude al servicio de Urgencias de nuestro Hospital con sintomatología y clínica sugestiva de una ictericia obstructiva. La cual presenta además una anemia severa de origen desconocido. Por lo que se le solicitan diversas pruebas para determinar la causa de la anemia y si tiene o no relación con la ictericia.

#### **Material y métodos:**

Determinación de fórmula leucocitaria (hemograma) y recuento de reticulocitos. Pruebas de Bioquímica: BT, BC, transaminasas, FA, LDH, GGT, amilasa. Pruebas de inmunología: proteinograma, inmunoglobulinas, factores de complemento. Se solicita además la realización de un frotis sanguíneo.

#### **RESULTADOS:**

Hemograma: 13.000 leucocitos/mpul; 75% de segmentados; 20% de linfocitos; 5% de monocitos.

Concentración de Hb: 7.6 gr/dl (Anemia Normocrómica-Normocítica). 13% de reticulocitos. BIOQUÍMICA: BT (14 mg/dl); BC (39%); GPT (186 U/L); GOT (185 U/L); Amilasa (1745 U/L); LDH (390 U/L); GGT (140 U/L).

Proteinograma: hipergammaglobulinemia policlonal: aumento de los niveles de IgG total (1770 mg/dl); factores de complemento dentro de la normalidad.

Frotis sanguíneo: presencia frecuente de hematíes con rasgos falciforme, cuerpos de Howell-Jolly, punteado basófilo, y anisopoiquilocitosis.

Se comprueba el diagnóstico de anemia falciforme homocigota por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC): HbS 89%; Hb F 8%; HbA2 3%.

#### **CONCLUSIONES:**

La anemia de células falciformes es una hemoglobinopatía autosómica recesiva con una incidencia de 1/6.000 producida por una mutación puntual (cambio de un Glu6β@pVal6β). La deformación del hematíe producida por los tactoides de la des-oxiHb da lugar a las formas de hoz características o deprañocíticas y a la consiguiente hemólisis extra-vascular e intravascular. La intensa hemólisis conlleva una hiperbilirrubinemia indirecta. En estos pacientes la ictericia crónica puede dar lugar a la aparición de cálculos de bilirrubina conjugada. Las anemias hemolíticas son producidas por causas diversas, pero todas ellas cursan con una ictericia a expensas de la Bilirrubina Indirecta (Pre-hepáticas) y pruebas de función hepáticas normales. Pero sin embargo en la anemia falciforme la hemólisis crónica origina un aumento de la conjugación de la bilirrubina indirecta dando lugar a la aparición de cálculos de bilirrubina. Siendo por tanto un caso particular de Anemia Hemolítica que puede generar la producción de una ictericia obstructiva, coexistiendo dos tipos de ictericia en un mismo paciente.

**ESTABILIDAD DE LAS MUESTRAS DE GASOMETRIA VENOSA**

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* CARMEN LOPEZ PEREZ, IGNASI BOSCH GOMEZ, ANA GRACIA MARTINEZ, ADELAIDA MARTIN GUERRERO

*Centro de trabajo:* HOSPITAL VALL D'HEBRON

*Provincia:* BARCELONA

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

**1. Introducción:**

La gasometría es una medición de la cantidad de oxígeno y de dióxido de carbono presente en la sangre. Este examen también determina el pH de la sangre. Este examen se utiliza para evaluar enfermedades respiratorias y padecimientos que afectan los pulmones e igualmente ayuda a determinar la efectividad de la oxigenoterapia. El examen también suministra información acerca del equilibrio ácido-básico del cuerpo, el cual puede revelar indicios importantes acerca del funcionamiento del pulmón y del riñón y del estado metabólico general del cuerpo. El anticoagulante más utilizado es la heparina de litio. Normalmente el examen se realiza de una muestra arterial, pero nuestro estudio se ha realizado con muestras venosas.

**2. Objetivos:**

El objetivo de nuestro trabajo es valor la estabilidad de la gasometría venosa a lo largo del tiempo a temperatura ambiente y con la muestra refrigerada para valorar la diferencia de los parámetros.

**3. Material y métodos:**

1. Extraer la muestra venosa y enviarla al laboratorio con hielo; 2. Observar si la muestra es correcta: - Sin burbujas o cámara de aire; - Muestra no coagulada; - Muestra suficiente. ; 3. Realizar el análisis de la gasometría en cuanto llegue; 4. Valorar los resultados; 5. Guardar la gasometría a temperatura ambiente y refrigerada; 6. A las 2h y 4h volver a realizar los pasos 2-4

**4. RESULTADOS:**

Temperatura ambiente:

Ph: 7,38; 7,35; 7,36; 7,39; 7,46; 7,41; 7,37; 7,36; 7,37; 7,34. media 7,379  
pCO2: 40,6; 36,8; 39,2; 41,8; 44,9; 35,8; 40,4; 45,4; 41,8; 41,6. media 40,83  
HCO<sup>-</sup>: 23,8; 20,1; 21,8; 24,7; 31,5; 22,5; 23,1; 25,5; 23,8; 21,9. media 23,87  
2hpH: 7,3; 7,26; 7,28; 7,35; 7,43; 7,35; 7,36; 7,34; 7,38; 7,29. media 7,336  
2hPCO2: 47,2; 44,8; 44,3; 48; 47; 43; 40; 45,1; 38,6; 45,5. media 44,35  
2h HCO<sup>-</sup>: 23,3; 19,9; 20,6; 26; 31,1; 23,3; 23,6; 24,1; 22,6; 21,9. media 23,6  
4h pH: 7,24; 7,19; 7,29; 7,26; 7,41; 7,28; 7,35; 7,34; 7,19; 7,19. media 7,224  
4h PCO2: 54,8; 54; 60,5; 51,7; 50; 47,5; 40,6; 41,8; 54; 55,4. media 51,03  
4h HCO<sup>-</sup>: 23,4; 20,2; 29; 22,8; 31,3; 22,1; 22; 22,1; 20,4; 21. media 23,43  
Refrigerado:  
Ph: 7,38; 7,28; 7,37; 7,4; 7,33; 7,43; 7,4; 7,44; 7,29; 7,42. media 7,374.  
PCO2: 49,5; 38; 43,6; 49; 52,1; 35,2; 53; 36,9; 57; 45. media 45,93  
HCO2<sup>-</sup>: 28,8; 17,5; 24,7; 30,2; 27,4; 23; 32,5; 24,8; 26,9; 25. media 26,08  
2h Ph: 7,38; 7,25; 7,33; 7,36; 7,32; 7,44; 7,4; 7,43; 7,29; 7,41. media 7,361  
2h PCO2: 45,6; 40,9; 44,8; 51,7; 54,5; 36,3; 52; 37,2; 60,3; 48. media 47,13  
2h HCO<sup>-</sup>: 26,6; 17,7; 23,8; 28,6; 27,8; 24,2; 31,7; 24,4; 28,5; 26,5. media 25,98  
4h Ph: 7,23; 7,34; 7,35; 7,31; 7,43; 7,39; 7,41; 7,29; 7,4. media 7,35  
4h CO2: 41,6; 45; 51,9; 53,8; 36,9; 55,7; 37,5; 60,1; 47,8. media 47,922222  
4h HCO<sup>-</sup>: 17,3; 24,2; 28,7; 26,9; 24,1; 33,3; 26,7; 28,2; 26. media 25,822222

**CONCLUSIONES:**

La explicación más probable para estos cambios es debido al metabolismo de los hematíes, estos convierten la glucosa en lactato y protones, estos que salen al plasma son los que acidifican la sangre. Los protones liberados se unen al HCO<sup>3-</sup> así aumentando la presión de CO<sub>2</sub>, también podría ser que aumentara mucho la presión por una mala purga al pasar la jeringuilla la primera vez, aunque en este caso aumentaría más. Por otro lado la temperatura ambiente en el laboratorio es de unos 25°C, que es inferior a la del cuerpo humano 37°C. Esto hace que las reacciones se den más lentamente. Por eso en las muestras refrigeradas 4°C los cambios no son tan bruscos ya que las reacciones metabólicas se han parado casi por completo.

**Valor diagnóstico de la B-HCG en el Servicio de Reproducción**

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* Serrano Fernández, María Inés; Fernández Castillo, Purificación; Serrano Fernández, Antonio Jose

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Virgen de las Nieves

*Provincia:* Granada

*Correo electrónico del primer firmante:* ines82serrano@hotmail.com

**INTRODUCCION:**

La Gonadotropina Coriónica Humana (HCG) pertenece a la familia de las glucoproteínas. Durante el embarazo la placenta produce HCG, lo que permite una detección precoz y seguimiento del embarazo, mientras que fuera de este, es generada por los tumores del trofoblasto, de células germinales con tejido trofoblástico y de cientos de tumores no trofoblásticos.

**Objetivos:**

Durante dos meses (noviembre y diciembre 2010), valorar el número de solicitudes de HCG recibidas en el laboratorio de bioquímica del Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Y su interpretación diagnóstica dentro del servicio de reproducción asistida de dicho hospital.

**Material y métodos:**

Se determinaron un total de 362 HCG, procedentes de diferentes servicios dependientes al Hospital Universitario Virgen de la Nieves, durante un periodo de dos meses. De estas, un total de 69 pertenecían al servicio de reproducción asistida.

La determinación de HCG se realizará mediante inmunoensayo en COBAS E-170 de Roche Diagnostic.

El rango a partir del cual se considera embarazo químico es valores >5mUI/ml de HCG.

**RESULTADOS:**

De un total de 69 peticiones de HCG, 36 obtienen un resultado <5mUI/ml por lo que se deduce que la implantación del óvulo fecundado no ha tenido éxito, frente a 33 que si lo han obtenido. La representación gráfica del total de solicitudes registradas y su distribución por sexos en función de los servicios es la siguiente:

**CONCLUSIONES:**

En un periodo de dos meses, recibimos un total de 362 peticiones de HCG, de las cuales un 19.06% pertenecen al servicio de reproducción. En un 47.8% de los casos, dio valores >5mUI/ml lo que significa el éxito en la implantación de óvulos fecundados en mujeres con dificultad en la concepción, frente a un 52.2% que no lo consiguieron.

**INTERFERENCIAS POR LA HEMOLISIS EN LA MEDICION DE DOCE PARAMETROS SERICOS EN EL DIMENSION EXL WITH LM.**

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* Díaz-Oliver Fernández-Escalona, Cristina; Muñoz Palos, Daniel; García Yonte, Juan Luis; Nieto Perales, Paloma; Izquierdo Bazaga, Aarón; Villamarín Rodríguez, Dayanara Alexandra.

*Centro de trabajo:* Bioquímica Clínica. Hospital Univ.Pureta de Hierro Majadahonda.

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* cristinaheidi@hotmail.es

**RESUMEN:**

Recibimos un elevado número de muestras hemolizadas diariamente en el laboratorio de urgencias. Esto produce una interferencia, tanto analítica como por la liberación de componentes celulares, en la determinación fotométrica de algunos parámetros bioquímicos. El objetivo fundamental de este trabajo es determinar y cuantificar la interferencia por la hemólisis producida in vitro, de doce parámetros bioquímicos que se miden rutinariamente en el laboratorio de urgencias. A las muestras de pacientes inicialmente no hemolizadas, se les añade una concentración conocida de hemoglobina y se miden todos los parámetros con los distintos grados de hemólisis.

**MATERIAL Y METODOS:**

Partimos de un concentrado de hemoglobina de 3 g/dl cuantificado en el laboratorio de Hematología de urgencias en el equipo Sysmex XE-2100 (Roche), mediante la lisis y lavado de hematías según protocolo establecido.

Utilización de sueros de pacientes de origen sueros no patológicos y patológicos, masculinos y femeninos, analizados en el equipo Dimension EXL with LM.(Siemens) resultados de urgencias y batería de diluciones de menor a mayor de concentrado de hemoglobina, seis en total correspondientes al índice del equipo HIL, H hemólisis de la muestra de 1 hasta 6 como índice máximo (de 25 a 1000 mg/dL)

**RESULTADOS:**

El análisis estadístico de los resultados obtenidos, ha indicado que existen diferencias significativas en las concentraciones de los parámetros bioquímicos:

interferencias importantes las correspondientes a la CK,AST,CREATININA,POTASIO, BILIRRUBINA,ALT,UREA,MAGNESIO se ven alterados por el aumento en la concentración de hemoglobina.

GGT, GLUCOSA, SODIO,CLORO alterados en menor medida por la hemólisis en nuestros resultados.

**CONCLUSIONES:**

Con los resultados obtenidos en este trabajo, se observan modificaciones en las concentraciones o actividades medidas para la mayoría de parámetros bioquímicos.

Por este motivo, resultaría interesante valorar que en índices elevados de hemólisis se producen resultados alterados, los cuales deben ser tenidos en cuenta como posible criterio de exclusión o valoración en el laboratorio de urgencias.

**COMPARACION DEL NUEVO METODO CKI PARA LA DETERMINACION DE CREATINA CINASA EN EL ANALIZADOR DIMENSION EXL CON EL ANTIGUO CK.**

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* Díaz-Oliver Rodríguez-Escalona, Cristina; Muñoz Palos, Daniel; Paul Lázaro, María Araceli; Martínez Chincolla, Carolina; Pulido Letrán, Ignacio; Garrandés Asprón, Rosa.

*Centro de trabajo:* Bioquímica Clínica. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda.

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* cristinaheidi@hotmail.es

**RESUMEN:**

El método CKI es una prueba de diagnóstico in vitro para la determinación cuantitativa de la creatina cinasa en suero humano. Este nuevo método se ha estandarizado con respecto al anterior según el procedimiento de referencia principal a 37 °C de la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) adaptado al sistema Dimension. Ambos métodos se basan en medidas fotométricas de la velocidad de formación de NADPH a 340 y 540 nm tras reacciones enzimáticas acopladas.

El objetivo de este trabajo es comparar los resultados obtenidos de actividad total de creatina cinasa en muestras de pacientes con las dos técnicas, con el fin de valorar si es necesario un cambio en el intervalo de referencia de pacientes sanos.

**Material y métodos:**

Se analizan por duplicado con cada técnica una serie de 44 muestras con valores de creatina cinasa entre 10 y 933 U/L en el analizador Dimension EXL (Siemens). Se calcula mediante el paquete estadístico SPSS v.15.0 la estadística de regresión para comparar ambos métodos, así como la t de student para muestras relacionadas con el fin de analizar si las diferencias entre los dos métodos son estadísticamente significativas.

**RESULTADOS:**

Tras análisis estadístico se obtiene una ecuación de regresión de  $y=0.25 + 1.11x$   $r=0.992$ . El valor de la pendiente (1.11 próxima a 1), la ordenada en el origen (0.25 próxima a 0) y el coeficiente de correlación ( $r=0.992$  próximo a 1), indican una buena correlación entre métodos. Las diferencias de los resultados entre ambos métodos se distribuyen aleatoriamente con respecto a la media de estas diferencias, por lo que no se observa error sistemático. Tras el cálculo de la t de student para muestras relacionadas, la  $p=0.325$  ( $>0.05$ ) indica que las diferencias entre métodos no son estadísticamente significativas.

**CONCLUSIONES:**

Con los resultados obtenidos en este trabajo, no se encuentran diferencias significativas entre los resultados de ambos métodos (CK y CKI, Siemens). Esto unido a las mejoras que presenta el nuevo método CKI en cuanto a su estandarización según la IFCC, entre otras la existencia de calibradores, justifican su cambio en el laboratorio de urgencias sin modificar los límites de referencia de creatina cinasa establecidos previamente.

**INCIDENCIAS EN EL SISTEMA INMUNOENSAYO DE DROGAS DE ABUSO**

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* MARIA JOSÉ ONSURBE DOMINGUEZ; LUISA MARIA BENAVIDES MUÑOZ; MARIA JOSÉ GONZÁLEZ LARA; MARIA JOSÉ VITAL SILVA

*Centro de trabajo:* HOSPITAL INFANTA CRISTINA, BADAJOZ

*Provincia:* BADAJOZ

*Correo electrónico del primer firmante:* mariajose.onsurbe@gmail.com

**Introducción:**

El uso de drogas de abuso sigue siendo un problema social y económico creciente. La Substance Abuse and Mental Health Service (SAMHSA) considera que los opiáceos, la cocaína, el THC, las anfetaminas y la fenciclidina son las drogas ilegales de consumo más frecuentes. Las benzodiazepinas, los antidepresivos tricíclicos, los barbitúricos y los opiáceos son algunos de los medicamentos de venta con receta de los que se abusa con mayor frecuencia. Los compuestos opiáceos que pueden dar resultados positivos incluyen opiáceos ilegales y también medicamentos antitusígenos que contienen codeína y preparados antidiarreicos. La metadona, aunque es conocida por su uso en el tratamiento de mantenimiento de los heroínómanos, presenta potencial adictivo, ya que produce drogodependencia similar a la de morfina.

La prueba de detección de drogas específicas para orina incluyen desde inmunoanálisis sencillos hasta los procedimientos analíticos complejos. La velocidad y la sensibilidad de los inmunoanálisis han hecho de éstos el método más aceptado para detectar la presencia de drogas de orina.

**Objetivos:**

Comparar dos sistemas diferentes de inmunoanálisis que detecta simultáneamente la droga y sus principales metabolitos urinarios, uno de forma semicuantitativa y otro de forma cualitativa

**MATERIAL Y MÉTODO**

Se analizaron treinta y nueve muestras de orina procedentes de pacientes de prisión y de las consultas del servicio de Urgencia del Hospital Infanta Cristina, ambos de Badajoz, por el sistema Dimension® de Siemens (determinación semicuantitativa mediante inmunoensayo) y por TRIAGE® Drug Screen (determinación cualitativa mediante fluoroinmunoensayo). A todas las muestras se les realizó las siguientes determinaciones: Benzodiazepinas, cocaína, opiáceos, metadona, anfetaminas, barbitúricos, fenciclidina, THC.

**RESULTADOS:**

Los resultados en la comparación mostraron una concordancia del 100% para benzodiazepinas y anfetaminas, una concordancia del 97,44% para cocaína, opiáceos, metadona, barbitúricos y del 94,87% para el fenciclidina y THC.

**CONCLUSIONES:**

No todos los resultados obtenidos mostraron una concordancia del 100%. Las discrepancias encontradas en los resultados pueden explicarse por las limitaciones del test para valores próximos al valor umbral de las diferentes pruebas, según especifica el fabricante. Se confirma la equiparabilidad de ambos test y su uso como métodos de screening en la determinación de drogas de abuso.

**ESTUDIO DE LOS MARCADORES DE INFECCIÓN AGUDA POR VHE**

*Trabajo de:*

*Autor/a/s:* M<sup>º</sup> ANGELES SANCHEZ PORRAS, CARMEN LOPEZ PEREZ, IGNASI BOSCH GOMEZ, ADELAIDA MARTIN GUERRERO, ANA GRACIA MARTINEZ.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL VALL D'HEBRON

*Provincia:* BARCELONA

*Correo electrónico del primer firmante:* masanchezp73@hotmail.com

**INTRODUCCION:**

La hepatitis E es poco frecuente en nuestro país, siendo la seroprevalencia de anticuerpos IgG anti VHE del 2% en donantes de sangre. El valor diagnóstico de las pruebas serológicas para el diagnóstico de hepatitis aguda E no está bien establecida.

**Objetivos:**

Estudiar la presencia de marcadores de infección aguda por VHE en una serie de pacientes con hepatitis agudas con IgG anti VHE atendidos en un periodo de 5 meses en nuestro hospital.

**PACIENTES Y MÉTODOS**

Entre 76 pacientes con hepatitis aguda, se detectaron 11 con anticuerpos anti VHE de tipo IgG. En estos casos se han determinado los anticuerpos IgG e IgM anti VHE mediante EIA (Biotek, España), IgM anti VHA, IgM anti-HBc y el ARN del VHC. El ARN del VHE se determinó en suero por RT-PCR. En todos los casos se han estudiado 2 muestras, una inicial recogida en la fase aguda y otra en la fase de convalecencia. Así mismo se ha realizado una encuesta epidemiológica en todos los casos.

**RESULTADOS:**

De los 11 casos estudiados, 4 eran mujeres y 7 presentaban ictericia. La edad media era  $53.64 \pm 15.56$  años, el valor medio de ALT de  $1034 \pm 804.48$  UI/ml. Entre los antecedentes epidemiológicos, 2 habían viajado al extranjero en los 4 meses anteriores. Se detectaron IgM anti VHE y el ARN del VHE simultáneamente en 3 casos, en uno con antecedentes de viaje al extranjero. Ningún paciente precisó ingreso hospitalario y todos resolvieron la infección. En la muestra de la fase de convalecencia los IgM anti VHE y el ARN del VHE fueron negativos en todos los casos y los anticuerpos IgG anti VHE desaparecieron en 5 casos.

**CONCLUSIONES:**

En nuestro medio existen casos autónomos de hepatitis E que justifican algunos casos no explicados de hepatitis aguda. Los anticuerpos IgM anti VHE son útiles para el diagnóstico de infección aguda de forma similar al ARN-VHE. En el 45 % de los casos los anticuerpos de tipo IgG desaparecen tras la infección aguda.

**COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS DE MEDIDA EMIT Y CMIA PARA LA MEDICIÓN DE NIVELES DE ÁCIDO VALPROICO**

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* Gutiérrez Ramos M<sup>º</sup> Pilar, Lucas Gómez Margarita, Ortega de Francisco Ana M<sup>º</sup>, Martínez Ercilla Sonia, Díaz-Valero Espada M<sup>º</sup> Ángeles, Martínez Guerrero Isabel M<sup>º</sup>.

Bajo la supervisión de los Drs. Ricard Sánchez Pérez, Laura Parés Pollán y Carlos Álvarez Vázquez

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario 12 de Octubre

*Provincia:* MADRID

*Correo electrónico del primer firmante:* mariapilar1@ya.com



## Introducción:

El Ácido Valproico es un fármaco ampliamente utilizado en el tratamiento antiepiléptico, trastorno bipolar y en la profilaxis de la migraña.

Recientemente y con motivo de la integración de técnicas analíticas generales en el laboratorio CORE-LAB de nuestro hospital nos ha sido preciso estudiar la intercambiabilidad de los nuevos métodos con los habitualmente utilizados en la Unidad de Monitorización de Fármacos. El propósito de este trabajo ha sido realizar una comparación entre el método de enzimo-inmunoanálisis homogéneo (EMIT) en el analizador Cobas e6000 y el método de inmunoanálisis quimioluminiscente de partículas (CMIA) utilizado hasta la fecha en nuestro laboratorio.

## Material y métodos:

Se compararon 40 muestras de pacientes por ambos métodos (1). Como pruebas estadísticas se utilizaron las de Bland-Altman y la prueba de regresión simple con el paquete estadístico CBstat5.

## RESULTADOS:

Los resultados obtenidos en la prueba de regresión simple al comparar las 40 muestras de pacientes por ambos métodos fueron:  $y = 0.990x + 0.028$  (i.c. 95% pendiente 0.933, 1.048; i.c. 95% ordenada en el origen -0.768, 7.672). El coeficiente de correlación de Pearson fue 0.985. El estudio de las diferencias entre métodos según Bland-Altman fue: 1) Diferencias absolutas:  $(2.786 \pm 1.579)$  ( $Dm \pm \mu$  2-SD) (i.c. 95% -7.199, 12.772) 2) Diferencias absolutas relativas:  $(0.059 \pm 0.034)$  ( $DRm \pm \mu$  2-SD) (i.c. 95% -0.157, 0.276).

## CONCLUSIONES:

La distribución de los valores fue adecuada como indica el coeficiente de correlación de la regresión simple. Ambos métodos resultaron intercambiables, ya que tanto el intervalo de confianza de las diferencias absolutas como el de las diferencias relativas absolutas contienen el cero.

Recomendaciones para el estudio de veracidad en el laboratorio clínico mediante la comparación de procedimientos de medida. Comisión de Metrología de la SEQC, Documento k, Fase 2, Versión 2.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 300

## A PROPOSITO DE UN CASO: PANCREATITIS AGUDA GRAVE.

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: ANA CALVENTE PÉREZ- MANUELA BENITEZ MENACHO -ESPERANZA DE BRINGAS POSADILLO - DOLORES QUINTANILLA ALBACETE.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DEL MAR.

Provincia: cadiz

Correo electrónico del primer firmante: anacalvente@andaluciajunta.es

## Introducción:

La pancreatitis aguda es un proceso inflamatorio agudo del páncreas con afectación variable de otros tejidos regionales o sistemas orgánicos distales desencadenada por la activación intraglandular de diversas enzimas pancreáticas con lesión tisular y respuesta inflamatoria variable.

La pancreatitis aguda grave (PAG) se asocia generalmente a fallo orgánico o sistémico (incluyendo shock, fallo respiratorio o insuficiencia renal) situándose la tasa de mortalidad de la PAG en España en el 31% y la mortalidad relacionada con complicaciones sépticas en un 45%.

## Material y métodos:

Al paciente se le extrae analítica de sangre (hemograma, coagulación y bioquímica general) a su ingreso en UCI, y posteriormente durante su derivación y estancia en Servicio de Digestivo del hospital. Además de punción del líquido procedente de la necrosis para bioquímica, recuento celular en cámara de Neubauer y microbiología.

La estratificación de la gravedad del paciente viene definida al cumplir 4 de los criterios de Ranson (edad > 55 años, leucocitos > 16000/ $\mu$ L, LDH > 350 U/L y GOT > 250 U/L) además de las complicaciones locales (necrosis objetivable por TAC abdominal) y generales (SIRS e insuficiencia renal).

Todos estos datos se recogen y procesan durante el periodo comprendido entre el 12 de abril del año 2010 hasta el 30 de abril del mismo año.

## RESULTADOS:

Paciente de 69 años que acude a Urgencias por dolor en hemiabdomen superior irradiándose a espalda. Presenta sensación disneica, acompañada de trabajo respiratorio con silbancias generalizadas y sudoración profusa. (diagnóstico diferencial entre pancreatitis aguda e isquemia mesentérica). Ante las pruebas de laboratorio y los hallazgos de las pruebas de imagen en las que se objetivan focos necróticos a nivel de la cabeza pancreática se diagnostica de episodio de pancreatitis aguda. Se decide su ingreso en UCI. Datos destacados de laboratorio al ingreso:

Leucocitosis de 26.000 leucocitos/ $\mu$ L con desviación a la izquierda. 91% de neutrófilos, hematíes 5.13 millón/ $\mu$ L, hemoglobina de 17.1g/dL, glucemia (no ayunas) de 140mg/dL, urea de 23 mg/dL, creatinina de 1.8 mg/dL, LDH sérica 360 U/L, GOT de 252 U/L, PCR de 49.17 mg/dL, amilasa en suero 149 U/L y calcio sérico de 9.7 mg/dL

Discreta cantidad de líquido peritoneal libre. Tras punción y recuento celular se observan 230 cél/ $\mu$ L con 85% PMN. El gram y el cultivo del líquido fueron negativos.

Evolución en 2- 3 días siguientes:

Hematíes de 4.19 millón/ $\mu$ L, hemoglobina de 13.8, glucemia (no ayunas) de 345 mg/dL, urea de 68 mg/dL, creatinina de 0.8 mg/dL. La amilasa sérica a las 24 48 horas alcanza un valor de 1109- 772 U/L respectivamente disminuyendo a los 3 días a 559 U/L. LDH se mantiene elevada y disminuye hasta 211 U/L al cuarto día de ingreso. El calcio sérico disminuye a 7.9 mg/dL.

No se solicita gasometría arterial por la falta de sospecha de IR. Con el diagnóstico de PAG el paciente permanece estable hemodinámicamente. El deterioro de la función renal se recupera con sondaje vesical e hidratación. En la analítica destacan elevación mantenida de RFA.

## CONCLUSIONES:

El sistema multifactorial tradicional más usado para definir la gravedad de esta entidad clínica son los criterios de Ranson. En total son once ítems que indican signos pronósticos tempranos desfavorables. De ellos nuestro paciente presenta cuatro al ingreso. La facilidad y la rapidez de las determinaciones bioquímicas, junto a una mayor sensibilidad que otras pruebas diagnósticas, hace que sean aún hoy los datos más frecuentemente utilizados. Así, ante un cuadro clínico compatible con elevación de enzimas pancreáticas se puede confirmar su diagnóstico.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 309

## INCIDENCIAS PREANALÍTICAS E INDICES SERICOS

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: GARCIA DIAZ, EVELYN; CARDENAL MIRALLES, CAROLINA; MIRAGALLA CASTRO, SANDRA; HERNANDEZ JIMENEZ, ADRIAN

Centro de trabajo: HOSPITAL INFANTIL UNIVERSITARIO NIÑO JESUS. MADRID

Provincia: MADRID

Correo electrónico del primer firmante: beluca\_80@hotmail.com

## Objetivo:

Conocer la situación de partida de la preanalítica en nuestro laboratorio de análisis clínicos, para establecer un plan de mejora. Valoramos el porcentaje de impresos de solicitud de análisis remitidos al laboratorio que carecen de los datos necesarios para su recepción y registro, y en las muestras de suero se tuvieron en cuenta las incidencias ocasionadas por las alteraciones de los índices séricos que van a producir modificaciones en los resultados

## MATERIAL y METODO

Se estudiaron 70475 pacientes desde el 1 de enero al 31 de diciembre de 2010, revisando la correcta cumplimentación de los impresos de solicitud en los epígrafes de identificación del médico peticionario, origen, diagnóstico, etc. En las muestras de suero se valoraron los índices de bilirrubina, hemólisis y lipemia mediante espectrofotometría (DxC 800 ®), con posterior comprobación visual. Para el estudio estadístico se utilizó Excel 2003.

## RESULTADOS:

De las 70475 muestras recepcionadas:

- 16720 carecían de alguno de los datos obligatorios para su registro. 10169 sin médico, 1251 sin servicio, 14278 sin diagnóstico y 586 sin los tres parámetros.
- 856 sueros presentaban alteración superior o igual a 3 en algún índice sérico,

Índice de hemólisis	% de muestras	Índice de bilirrubina	% de muestras	Índice lipemia	% de muestras
0	77,52 %	0	0,16 %	0	73,74 %
1	17,95 %	1	72,73 %	1	24,2 %
2	2,33 %	2	24,52 %	2	1,56 %
>=3	2.08 %	>=3	2.85 %	>=3	0,14 %

- Los índices séricos se corresponden con los siguientes rangos de bilirrubina (índice3=3.0-4.5 mg/dL), hemoglobina (índice3=1.0-1.5 g/L) y lipemia (índice3=80-120 mg/dL).

## CONCLUSIONES:

- Un 23.74% del total de las muestras recepcionadas presentaban alguno de los eventos estudiados.
- El número de incidencias es directamente proporcional a la mayor solicitud analítica de los servicios.
- En valores absolutos se encuentra un incremento de muestras con incidencias pertenecientes a los servicios de endocrinología, oncología, urgencias y cuidados intensivos.
- Se ha observado un peor cumplimiento del impreso de solicitud de muestras por los servicios de endocrinología y oncología.
- Se observa un incremento en los valores de los tres índices séricos en pacientes menores de 1 año. Esto se podría deber: el índice lipémico a la dificultad de realización del ayuno en estos pacientes, el índice hemolítico a la dificultad de la extracción en niños tan pequeños, y el índice de bilirrubina se explicaría por la presencia de casos de ictericia neonatal.
- El incremento de los índices séricos es debido a la no utilización de sistemas de vacío para

la extracción de la muestra (oncología), pacientes con alimentación parenteral (oncología e intensivos), que no guardan el ayuno (urgencias y alergia), tratados con fármacos que alteran la función hepática (oncología, intensivos y urgencias).

- La propuesta de plan de mejora de la preanalítica tras el estudio de los resultados obtenidos sería la implantación de la petición electrónica con campos de obligada cumplimentación y la utilización en la extracción de muestras de sistemas de vacío para disminuir la presencia de hemólisis.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 310

### Medición de procalcitonina y proteína C reactiva en suero de pacientes con hemocultivos con resultado presuntivo positivo

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Prado Patiño Naranjo, María Jesús de Pedraza Hernández, Carmen Álvarez Dorado, Carmen Carrillo Fernandez

Centro de trabajo: HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DEL PRADO

Correo electrónico del primer firmante: pradirene@ya.com

#### Introducción:

El síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) se caracteriza por la presentación de una temperatura corporal anormal, taquicardia, hiperventilación y recuento leucocitario anormal. Junto a estos datos clínicos hay una elevación de marcadores de la agresión tisular, como son la proteína C reactiva (PCR), interleucina 6 y procalcitonina (PCT), entre otros. Sin embargo, mientras la PCR es un reactante de fase aguda inespecífico que aumenta en cualquier situación inflamatoria, la PCT ha emergido en los últimos años como biomarcador capaz de discernir infecciones bacterianas generalizadas de otro tipo de respuesta inflamatoria.

#### Objetivo:

En el presente estudio nos planteamos realizar la determinación de 2 marcadores de SRIS, como son la PCR y PCT en el suero de pacientes en los que se había solicitado hemocultivos y tuvieron un resultado presuntivo positivo, aunque no siempre se confirmó mediante cultivo, pretendiendo elucidar si la PCT es buen predictor de bacteriemia.

#### Material y métodos:

Se recogió sangre de 33 pacientes con sospecha de sepsis bacteriana en al menos dos frascos (uno aerobio y otro anaerobio) y un tubo sin anticoagulante y se incubó durante 5 días en un equipo BACTEC 9240 (BECKTON and DICKINSON®). Se seleccionaron para la medida de biomarcadores de inflamación aquellos casos que recibieron un resultado preliminar positivo en el hemocultivo. Se realizaron pases a placas de agar sangre y agar chocolate de las sospechas de hemocultivo positivo, incubándose a 37°C en atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub> durante 48 horas. Cuando se aisló algún microorganismo se identificó mediante el panel WIDER (SORIA MELGUIZO®) y mediante otras pruebas complementarias cuando fue necesario. Paralelamente se obtuvo suero mediante centrifugación a 3000 rpm durante 10 minutos de los tubos de sangre sin anticoagulante, congelándose el sobrenadante a -20°C hasta su análisis. La PCR se determinó en el equipo DIMENSION XPAND (SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS®) mediante un método inmunoturbidimétrico, mientras que la PCT se analizó en el equipo VIDAS (BIOMERIEUX®) mediante un ensayo inmunoenzimático de detección de fluorescencia.

#### RESULTADOS:

La muestra de presentó una edad media de 71.69 (desviación 11.25), con una distribución por sexos de 23 varones (69.69%) y 10 mujeres (30.30%). Se aislaron y se identificaron microorganismos en 25 casos (75.75%), siendo el aislado más frecuente Staphylococcus epidermidis (40%), seguido de Escherichia coli (20%), Staphylococcus aureus (12%) y Enterococcus faecalis (8%). Considerando el punto de corte universalmente para (10 mg/L para la PCR) se obtuvieron 29 resultados (93.54%) por encima del valor discriminante. La sensibilidad diagnóstica óptima para PCT fue del 76%, para un punto de corte de 0.19 ng/mL. Usando este valor discriminante para la PCT se obtuvieron 23 resultados (69.69%) por encima de dicho valor.

#### CONCLUSIONES:

En nuestro estudio se observa que la PCT es mejor predictor de bacteriemia que la PCR, que está elevada en la mayoría de los pacientes. Sin embargo la PCT sigue sin ser el biomarcador ideal de sepsis, ya que permanece baja en algunos cuadros de bacteriemia (falso negativo) y se eleva en algunos casos en que no hay bacteriemia (falso positivo). Una limitación del estudio es que no se identifican las bacteriemias de especies que no crecen en los medios habituales.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 313

### DETERMINACION DE PTHI INTACTA INTRAOPERATORIA EN EL HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Herias Corral, María. Arribas Escaso, Teresa. Rejas Muslera Ana. Martinez Muñoz, María del Carmen. Gonzalez Villalba, María Jesus.

Centro de trabajo: Servicio de Bioquímica clínica. Hospital Universitario La Paz (Madrid)

Correo electrónico del primer firmante: mcastandel@hotmail.com

#### Introducción:

La paratidina controla los niveles de calcio, fosfato y vitamina D en la sangre. En el hiperparatiroidismo primario, cuya causa principal es el adenoma paratiroideo, el tratamiento de elección es la paratidoidectomía. En la última década, los avances han hecho posible la monitorización de los niveles de PTHi intraoperatoria en la cirugía del hiperparatiroidismo. Siguiendo el protocolo de monitorización, se considera que, tras la resección de la paratiroides patológica, un descenso de la PTH mayor o igual del 50% del valor basal sugiere la eliminación completa del tejido hiperfuncionante. La recuperación de los valores normales de PTHi tras la eliminación del tejido paratiroideo y la normocalcemia postoperatoria son criterios de éxito quirúrgico.

#### Objetivos:

Valorar el beneficio de la medida de PTHi mediante el porcentaje de pacientes en los que se podrían evitar la realización de una segunda intervención en el manejo terapéutico de hiperparatiroidismo.

#### Material y métodos:

El estudio realizado en 100 pacientes diagnosticados de HP en los que la media de edad fue 58 años (De 13,44) con una distribución de 76% de mujeres y 24% de hombres, el 68% de los pacientes presentaba adenoma, el 9% hiperplasia, el 8% quiste y el 15% desconocido. Se determinó PTHi rápida intraoperatoria pre y postquirúrgica (10 min tras extirpación) en sangre venosa de vía periférica en tubo de EDTA en frío mediante quimioluminiscencia (Immulate 2500, Siemens healthcare diagnostics). Se determinó el calcio total pre y postquirúrgico en suero por complexometría colorimétrica (Olympus AU5400, IZASA). Se realiza análisis estadístico descriptivo con programa SPSS 15.01.

#### RESULTADOS:

En el 91% de los casos se observó una disminución de PTHi postquirúrgica igual o superior al 50% respecto a la muestra prequirúrgica y en el 95% de ellos presento concentraciones de calcio total dentro del rango. Del 9% de los casos en los que no se produjo disminución de los niveles de PTHi, el 44% continuo con el proceso quirúrgico observándose un descenso de PTHi mayor del 50% en la segunda muestra enviada. En el resto de los pacientes la intervención finalizó debido a que, quirúrgicamente, no se evidenciaba tejido glandular patológico o el estudio de anatomía patológica no fue concluyente.

#### CONCLUSIONES:

La determinación de PTHi intacta intraoperatoria consigue evitar las reintervención de un porcentaje relevante de pacientes, ya que permite la evaluación rápida de la presencia de tejido paratiroideo hiperfuncionante residual, logrando así la realización de cirugías mas dirigidas y menos invasivas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 318

Aplicación de criterios de adulteración en muestras de drogas de abuso en orina.

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Martín Vega, José Valerio. Bolaños del Rosario, María del Carmen. Molina García, María del Carmen.

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

Provincia: Las Palmas de Gran Canarias.

Correo electrónico del primer firmante: valmaveg@yahoo.es

#### Introducción:

Las muestras de orina para la determinación de Drogas de Abuso, pueden ser susceptibles de alterarla conscientemente por parte del paciente. Principalmente diluyéndola o sustituyéndola por agua, &

Siguiendo las recomendaciones establecidas por la SAMHSA (Substance Abuse and Mental Health Services Administration); la cual establece los parámetros analíticos y los valores a obtener para descartar las muestras que hayan podido ser adulteradas; reflejándose en la siguiente tabla:

Parámetros	Limites	SAMHSA Interpretación
Creatinina, densidad	≤ 5 mg/dl y ≤ 1.001	Sustituida
Creatinina, densidad	≤ 5 mg/dl y ≤ 1.020	Sustituida
Creatinina, densidad	<20 mg/dL y <1.003	Diluida
Creatinina, densidad	≤5 mg/dL y 1.003 < 1.019	Muestra inadecuada para la prueba
pH	≤3 ó ≥ 9	Adulterado, pH demasiado alto o bajo

#### Objetivos:

Detectar las posibles adulteraciones de las muestras de orinas recogidas por el paciente, para el análisis de drogas de abuso.

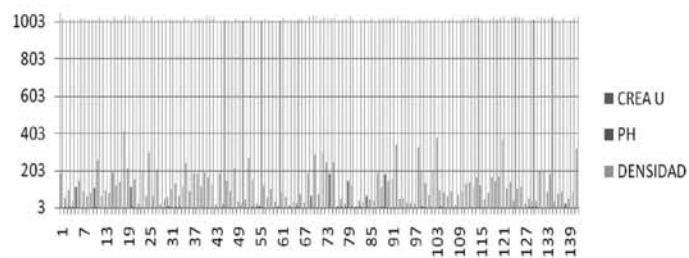
#### Material y método:

Se realiza un seguimiento de 141 muestras de orina, de pacientes perteneciente a controles realizados por la Unidad de Desintoxicación del hospital, así como también de otras que nos llegaron a través de los servicios de urgencias y a las cuales se les solicitaban drogas

de abuso (anfetaminas, benzodiacepinas, cannabis, cocaína y opiáceos). Realizándoles paralelamente la Creatinina, el pH y la Densidad urinaria. Los análisis se procesaron con los autoanizadores; Hitachi Cobas 6000, para la determinación de drogas y por el Urisys 1800 con tiras reactivas Combur Test M, para el resto de análisis. Ambos perteneciente a Roche Laboratory Diagnostics

### RESULTADOS:

Teniendo en cuenta la tabla anterior, obtenemos los siguientes resultados expresados a continuación:



	Muestras adulteradas	
Creatinina, densidad	≤ 5 mg/dl y ≤ 1.001	0
Creatinina, densidad	≤ 5 mg/dl y ≤ 1.020	0
Creatinina, densidad	<20 mg/dL y <1.003	0
Creatinina, densidad	≤5 mg/dL y 1.003 < 1.019	0
pH	≤3 ó ≥ 9	0

**Conclusión:** Revisado todos los resultados obtenidos, observamos que ninguna de las muestras remitidas han sufrido adulteración alguna, desde el punto de vista de posible dilución o mezcla con otro líquido.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

**Número: 320**

### HÁBITO TABÁQUICO EN LAS GESTANTES Y ABORTO ESPONTÁNEO: ANÁLISIS A TRAVÉS DEL PROGRAMA DE CRIBADO DE ANEUPLOIDÍAS DE PRIMER TRIMESTRE

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* DE BRINGAS POSADILLO, MARÍA ESPERANZA; BENÍTEZ MENACHO, MANUELA; CALVENTE PÉREZ, ANA; RÍOS QUESADA, CATALINA; GUTIÉRREZ ROMERO, JAVIER; BAILÉN GARCÍA MARIA ÁNGELES

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DEL MAR DE CÁDIZ

*Provincia:* (CÁDIZ)

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

### Introducción:

En el año 2006 el Hospital Universitario Puerta del Mar (HUPM) puso en marcha en el área de Cádiz el Screening de aneuploidías en el primer trimestre de embarazo, en la modalidad de dos tiempos.

La captación precoz de las gestantes se realiza en Atención Primaria, las determinaciones bioquímicas de Papp-A y B-Hcg libre son realizadas en nuestro laboratorio en semana gestacional (sg) 8 a 12 y las ecografías en el Servicio de Obstetricia del HUPM (sg 12-13). La gestión del programa es responsabilidad del Servicio de Análisis Clínicos.

La información de resultados normales se remite a la Matrona o Médico de familia. En caso de resultados anormales es el facultativo analista el que organiza la cita para prueba invasiva en nuestra unidad de Medicina Fetal e informa personalmente a la gestante. En este trabajo estudiamos la influencia del hábito tabáquico en aquellos estudios que cursan con aborto espontáneo antes de la semana 13.

### Material y métodos:

Programa de cribado de aneuploidías PRISCA suministrado por Siemens para cálculo de MoM.

Determinaciones de Papp-A y free-BHCG realizadas en Inmulate 2000 por quimioluminiscencia.

Exportación selectiva en EXCELL de los datos de los años 2006 a 2010.

### RESULTADOS:

De los 8.329 estudios realizados en ese período de tiempo, 549 (6.59% del total) no llegan a término por aborto espontáneo.

El hábito tabáquico entre las gestantes que terminan el programa y las que sufren aborto es la siguiente:

	Total muestras	%	Total abortos	% del total abortos	% según hábito tabáquico
No fumadoras	6.096	73.2	373	67.9	6.1%
Fumadoras	2.233	26.8	176	32.1	7.9%
	8.329		549		

La distribución del hábito tabáquico por grupos de edad es la siguiente:

Edad	Nº Gestantes	No fumad	% total grupo	% abortos	Fumadoras	% total grupo	% abortos
< 20	271	146	53.9	10.3	125	46.1	16
20-25	848	495	58.4	6.66	353	41.6	7.36
25-30	2.165	1.503	69.4	5.85	662	30.6	6.8
30-35	3.159	2.482	78.6	5.5	677	21.4	6.65
35-40	1.625	1.267	78	5.6	358	22	8.4
>40	261	203	77.8	14.3	58	22.2	17.24

### CONCLUSIONES:

La proporción de mujeres fumadoras que abortan espontáneamente es significativamente superior a las no fumadoras tanto en el total, como en los grupos por edades.

El grupo de gestantes más elevado se encuentra entre los 30 y 35 años, y parece que son las más concienciadas frente a los perjuicios del tabaco puesto que casi el 79% no fuman y proporcionalmente, tienen la menor tasa de abortos. Es llamativo que el 46% de las menores de 20 años fuman, y la proporción de abortos en esta edad es casi igual que entre las mayores de 40 años.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

**Número: 321**

### EL COSTE DE UNA BENZODIAZEPINA

*Trabajo de:* Bioquímica

*Autor/a/s:* Rodríguez Lorenzo L, Estevez Rodríguez R, Vidal Rodríguez A, Herrera Caveda A, Ramallal García M.M, Prieto García B. y de la Cruz Martín P.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Central de Asturias

*Correo electrónico del primer firmante:* loreastur@hotmail.es

### INTRODUCCION:

El screening cualitativo de drogas de abuso en orina se solicita muy frecuentemente en el Laboratorio de Urgencias como ayuda al diagnóstico. En nuestro laboratorio se realiza un panel que incluye: anfetaminas, barbitúricos, cocaína, marihuana, metadona, metanfetamina, metilendioximetanfetamina, morfina, antidepresivos tricíclicos y benzodiacepinas (BZD). Las BZD son fármacos de uso muy extendido en la actualidad. En medicina se usan para la terapia de la ansiedad, el insomnio y las alteraciones afectivas, así como en epilepsias y síndromes de abstinencia. A nivel particular, los individuos consumidores de drogas estimulantes con frecuencia emplean BZD para calmar su estado anímico o para tratar los estados de pánico causados en las intoxicaciones por alucinógenos.

### Objetivo:

Analizar las peticiones de drogas de abuso del primer trimestre de los años 2009 y 2010, con el fin de estudiar la posible reducción de costes que supondría el uso de una placa que solo determinara BZD, ante un caso de sospecha de intoxicación por estos fármacos, en lugar de los kit múltiples usados actualmente.

### MATERIAL Y METODOS:

Estudio observacional retrospectivo de los resultados de las drogas en orinas realizadas en el Laboratorio de Respuesta Rápida del Hospital Universitario Central de Asturias durante el primer trimestre de los años 2009 y 2010.

Las orinas se recogieron en tubos Vacuette® sin conservante, se centrifugaron a 1500 rpm durante 5 minutos, y se procesaron cualitativamente en el kit DRUG-CLIP de Biorad®. Para su análisis se depositan 3 gotas de orina en cada pocillo de muestra y se leen los resultados a los 5 minutos. Es una prueba de screening en la que aparece una franja de color en la zona de control y otra junto a cada parámetro cuando resulta negativo. Si no aparece la línea en la zona de la prueba, se considera positivo.

### RESULTADOS:

En el año 2009, se recibieron un total de 734 muestras con petición de drogas durante el primer trimestre del año, de las cuales fueron positivas en BZD un total de 400 (54,5%). De ellas, 208 corresponden a hombres (52%) y 192 a mujeres (48%). Del grupo de pacientes positivos en BZD (n=400), 276 (69%) no consumieron otras drogas y 124 sí (31%). Si separamos en función de la edad los pacientes que sólo tuvieron las BZDs positivas, encontramos un 59% (35 de 59) en el rango de edad de 0-25 años, un 66.5% (165 de 248) en el rango de edad de 26-50 años, un 78% (61 de 78) en el rango de edad de 51-75 años y un 100% (15) en los positivos a partir de 76 años.

En el primer trimestre del año 2010 los resultados son similares. Se recibieron un total de 736 muestras de las cuales fueron positivas en BZD un total de 387 (52.6%). De ellas, 220 corresponden a hombres (57%) y 167 a mujeres (43.2%).

Dentro del grupo de los pacientes que resultaron positivos en BZD (n=387), 271 (70%) no consumieron otras drogas y 116 sí (30%). Si separamos en función de la edad los pacientes que sólo tuvieron las BZDs positivas, encontramos un 82% (23 de 28) en el rango de edad de 0-25 años, un 64% (145 de 225) en el rango de edad de 26-50 años, un 74% (82 de 110) en el rango de edad de 51-75 años y un 87% (21 de 24) en los positivos a partir de 76 años.

## CONCLUSIONES:

En los dos periodos de estudio, el consumo de BZDs es similar, suponiendo más de la mitad de los casos positivos del panel de drogas. A la vista de los resultados, sería recomendable desde el punto de vista económico que, en casos donde la sospecha de intoxicación oriente a BZDs, se dispusiera en el laboratorio de un kit específico para su determinación unitaria. Esto supondría un gran ahorro ya que el panel de las 10 drogas que utilizamos actualmente tiene un coste de aproximadamente 10- y la placa unitaria de BZDs cuesta aproximadamente 2-.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 324

## GASOMETRIA ARTERIAL Y VENOSA

*Trabajo de:* Bioquímica

*Autor/a/s:* Dessiré Bethencout Aguilar, Carmen María Jorge Rodríguez, María Monserrat Díaz.

*Centro de trabajo:* Hospital de Nuestra Señora de Guadalupe

*Provincia:* Santa Cruz de Tenerife

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

## INTRODUCCION:

En el estudio comparamos los resultados de la gasometría arterial con la venosa con la finalidad de establecer la efectividad de los gases venosos en la evaluación de descompensación metabólica en pacientes diabéticos ya La gasometría es una técnica indispensable en el diagnóstico y seguimiento de estos pacientes.

## MATERIAL Y METODOS:

Se compararon resultados de 14 pacientes 5 mujeres y 9 hombres en edades comprendidas entre 25 y 40 años, con Diabetes Mellitus descompensados en acidosis, a los que se les extrajeron dos muestras (arterial y venosa) de forma continua, en el Hospital Nuestra Señora de Guadalupe en la Gomera. Estas muestras fueron analizadas en un gasómetro OMNI C (Roche)

## RESULTADOS:

Los resultados de laboratorio de los pacientes son los siguientes (media +/- desviación estándar): pH arterial 7.20 +/- 14, pH venoso 7.17 +/- 13, HCO<sub>3</sub> arterial 11.0 +/- 6.0 mmol, HCO<sub>3</sub> venosa 12.8 +/- 7.6 mmol. La diferencia media entre los valores de pH venoso y arterial fue de 0,03 (rango 0,0 a 0,11). resultados arterial y venosa de pH r=0.9689 y arterial y venosa HCO<sub>3</sub> resultados r=0,9543.

## CONCLUSION:

Después de analizar y comparar los datos observamos que no hay diferencias estadísticamente significativas entre el HCO<sub>3</sub> y pH. Estos resultados sugieren la posibilidad de realizar gasometrías venosas para el seguimiento metabólico del paciente.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 325

## COMPROBACION DE LA DEGRADACION DE LA IPTH

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* Carmen M<sup>a</sup> Jorge Rguez, Susana Martín Fariña, Monserrat Padilla Herrera, Dessiré Bethencout Aguilar.

*Centro de trabajo:* Centro Hospitalario Universitario de Canarias

*Provincia:* S/C de Tenerife

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

## INTRODUCCION:

Vamos a realizar un estudio comparativo de la hormona iPTH, hormona proteica liberada por la glándula paratiroides y el regulador más importante de los niveles de calcio y fósforo, por lo que es un parámetro de seguimiento para los enfermos de riñón que realizan diálisis. Debido a la degradación de esta hormona tiene que centrifugarse inmediatamente a su llegada al Laboratorio Central del HUC.

## Objetivo:

Queremos comprobar si el test de la iPTH se debe realizar cuanto antes o se puede mantener en la nevera (4°C) 24 horas antes de analizarla.

## MATERIAL Y METODOS:

Se han analizado 20 muestras de suero de pacientes rutinarios de diálisis con edades comprendidas entre los 25 y los 40 años de edad, de los cuales 5 (25%) son mujeres y 15 (75%) son hombres. Se ha utilizado el analizador inmulite 2000 que se basa en la técnica de la quimioluminiscencia.

## RESULTADO:

Las muestras analizadas una vez centrifugadas nos da una media de 73,6 pg/mL, la media de las muestras analizadas 24 horas después nos da 68,9 pg/mL, la diferencia entre ambas es de 4,7 pg/mL (p =2,4). De todos los pacientes 4(20%) presentan una degradación mucho mas significativa que la del resto de los pacientes (0,72 pg/mL), 8(40%) presentan una degradación media (2,74pg/mL) y los 8(40%) restantes presentaron una degradación menos significativa al resto (1,54 pg/mL).

## CONCLUSION:

Se observa una diferencia significativa en la degradación de la hormona pasadas las 24 horas. Si la muestras no se pudiera procesar en las siguientes horas a la llegada al Laboratorio se debería separar y congelar para evitar la degradación de la hormona, manteniéndolos en nevera ese pequeño periodo que transcurre antes de analizarlo o alicuotarlo para su congelación.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 326

## ESTUDIO DE LA MACROCREATINCINASA EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS

*Trabajo de:*

*Autor/a/s:* Raquel Bonilla Liberal, M<sup>a</sup> Angeles Hidalgo Zamora, Carmen Perez Arias, Susana Muñoz Heras, M<sup>a</sup> Guadalupe Bernal Ramirez, M<sup>a</sup> Luisa Sánchez López.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario de Getafe

*Provincia:* MADRID

*Correo electrónico del primer firmante:* rakel.75@hotmail.com

## Introducción:

La fosfotransferasa, creatinincinasa CK, es un dímero formado por la combinación de dos subunidades M y B (músculo y cerebro) respectivamente constituyendo las isoenzimas CKMM, CKBB CKMB. Existe otra forma presente en las mitocondrias CK-mitocondrial que rara vez se libera a la circulación. La unión de las isoenzimas con inmunoglobulinas (Ig) forma macroenzimas llamadas Macro-CK.

## Objetivo:

Comprobar la implicación de la Macro-CK, en el diagnóstico de cardiopatía isquémica en el laboratorio de Urgencias del Hospital Universitario de Getafe.

## Material y método:

Las determinadas de CK (reacción enzimática cinética) y CKMB (inmunoinhibición con anticuerpos anti-CKMM) se realizaron en un analizador Roche/Hitachi Cobas 6000®, al igual que la Troponina I cardiaca por técnica inmunométrica.

## RESULTADO:

Se realiza un estudio descriptivo de un total de 18 pacientes durante el año 2010 que presenta posibles interferencias por Macro-CK. ( El número de pacientes es tan pequeño por la baja prevalencia de este fenómeno).

Los niveles medios de CK fueron 321 mU/ml con una CKMB de 594 U/L. Los niveles de Troponina I, en el 94% de los casos se encontraba dentro de los límites normales (0,0 0,4 ng /ml). Habiendo, sido solicitada en el 88% de los pacientes.

Las patologías más frecuentes fueron: respiratoria 22%, cardiaca 28%, vascular 11%, con Diabetes 16% y el resto eran pacientes que presentaban neoplasia o cuadro leucoeritroblástico.

## Conclusión:

Los métodos de inmunoinhibición para la determinación de CKMB, no inhiben la actividad de Macro-CK, por lo que genera valores falsamente elevados de CKMB, en caso de descartar cardiopatía isquémica.

Este hecho plantea la necesidad de métodos más sensibles para evitar estas interferencias. Así mismo, se recomienda el uso de electroforesis de isoenzimas de creatinincinasa para determinar si es Macro-CK I (naturaleza cardiaca) o Macro-CK II de (naturaleza neoplásica). Además de solicitar siempre la determinación de Troponina I, ya que nos aporta más datos para poder valorar y dar un diagnóstico más rápido.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 327

## TROPONINA I EN SERVICIO DE URGENCIAS

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* ANA ISABEL MARTIN MENDEZ, CONCEPCION MORENO RICAS, MARIA ISABEL LUJAN GARCIA, MARIA MILAGRO INIESTA RODRIGUEZ-PALANCAS, INMACULADA RODRIGUEZ RODRIGUEZ Y MIGUEL ANGEL RUIZ GINES

*Centro de trabajo:* HOSPITAL VIRGEN DE LA SALUD. TOLEDO

*Correo electrónico del primer firmante:* soy\_yo\_ani@hotmail.com

## INTRODUCCION:

Una patología frecuente del Servicio de Urgencias son los dolores torácicos secundarios a patología coronaria. Es prioritario un rápido diagnóstico de esta enfermedad, con el fin de mejorar la morbi-mortalidad y el pronóstico de los pacientes que sufren esta grave afectación. En muchas ocasiones, la clínica y las pruebas electrocardiográficas no permiten llegar a un diagnóstico definitivo, por lo cual necesitamos pruebas analíticas. Entre ellas, contamos con la CK, aunque es muy inespecífica para el diagnóstico de cuadros de origen coronario y comienza a elevarse a las 4-8 horas desde el comienzo de los síntomas. La CK-MB, presenta una mayor especificidad, pero tiene el inconveniente de que puede elevarse en situaciones diferentes a patología coronaria. Por último, disponemos de la determinación de Troponina I, más sensible, específica y que comienza a elevarse a las 3 horas del inicio de la clínica.

### Objetivo:

Comprobar la utilidad de la Troponina-I en el diagnóstico del Síndrome Coronario Agudo (SCA) frente a las determinaciones CK y CK-MB.

### Material y método:

Durante un período de 15 días, se determinó la Troponina I en suero a todos los pacientes (750) que acudían al Servicio de Urgencias con clínica sugerente de patología cardíaca. Se empleó el autoanalizador VITROS®5600, para esta determinación utiliza la técnica de inmunoensayo inmunométrica. Consideraremos diagnóstico de SCA, niveles de Troponina I superiores al cut-off de 0,120 ng/mL y porcentaje mayor del 5 % de CK-MB respecto a CK.

Hay que destacar que esta técnica presenta interferencias secundarias a hemólisis y a los anticuerpos heterófilos (HAMA), por lo que las muestras que presentaban estas posibles alteraciones fueron suprimidas del estudio.

### RESULTADOS:

Del total de enfermos (750), a los que se les solicita CK y Troponina I, 680 pacientes presentan CK < 290 UI/L. Clasificamos a estos pacientes en tres grupos. El primer grupo engloba a 65 pacientes con concentraciones de Troponina I > 0,120 ng/mL (juicio clínico de SCA). El segundo grupo, 346 pacientes, presentaron valores de Troponina I < 0,120 ng/mL y, por último, el tercer grupo, 70 pacientes, niveles de CK >290 UI/L y Troponina I <0,120 ng/mL.

Obtuvimos 39 casos en los que la Troponina I fue negativa y la CK-MB no superaba el 5% del total de la CK.

**CONCLUSIONES:** Nuestro estudio demuestra la importancia de la determinación de Troponina I en la detección y manejo precoz de una patología tan grave como la enfermedad coronaria. Consideramos que es una prueba fundamental en cualquier Servicio de Urgencias, por una parte por ser un marcador mucho más específico y por otra parte por presentar una elevación más temprana que las clásicas enzimas cardíacas (CK y CK-MB). Podemos observar que 65 pacientes del total del grupo de estudio presentaron unos niveles indicativos de SCA, que posteriormente fueron confirmados y sometidos a tratamiento hemodinámico por parte del Servicio de Cardiología. Por otra parte, si las concentraciones de CK y Troponina I presentan resultados dentro del intervalo de referencia (37-290 UI/L y 0,0-0,120 ng/mL, respectivamente), así como niveles de CK elevados pero Troponina I dentro de la normalidad, podríamos descartar en un gran número de casos la patología cardíaca, evitando inconvenientes tanto para el paciente (necesidad de más pruebas e intervencionismo) como recursos materiales y de personal.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 336

### Recepción de muestras en Preanalítica y sus errores más frecuentes.

*Trabajo de:* BIOQUÍMICA

*Autor/a/s:* Lucea Parejo, Yolanda / Ruiz Modrego, Ana Cristina

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Miguel Servet

*Provincia:* Zaragoza

*Correo electrónico del primer firmante:* yolisl76@hotmail.com

### Introducción:

El área de Preanalítica se encuentra integrada en el servicio de Bioquímica Clínica y aun a pesar de su gran importancia, es una gran desconocida para la gran mayoría de los trabajadores del sistema de salud. La tendencia actual de implantar Sistemas de Gestión de Calidad en los laboratorios clínicos implica la gestión del proceso en su totalidad incluyendo la fase Preanalítica.

### Objetivo:

El objetivo de este documento es dar a conocer la sistemática del procedimiento para la recepción de las muestras, incluyendo su gestión en el área de Preanalítica. Y así, describiendo el proceso seguido en esta sección, detectar y dar a conocer los errores que podemos encontrarnos.

### Materiales y métodos:

Muestras y sistema informatizado de preparación de las mismas, AUTOMATE 800, Beckman Coulter, IZASA.

Proceso:

- Solicitud de analítica, con la cual el paciente ha de dirigirse a la secretaría del área de Preanalítica.
- Registro en el sistema informático de laboratorio (Modulab) de la solicitud y recogida del número de orden para la extracción.
- Entrega al paciente de las etiquetas generadas por el programa, donde aparece la información referente al tipo de tubo a extraer.
- Extracción de la sangre.
- Los tubos se van distribuyendo en las gradillas correspondientes para cada tipo de tubo.
- Los tubos sin anticoagulante, son subidos directamente para ser analizados en la sección de bioquímica general, cadena automatizada.
- Los tubos con EDTA y tubos sin anticoagulante para alícuota pasan por el sistema automatizado.

### RESULTADOS:

Seguimiento de varias muestras elegidas al azar:

- Tiempo que tarda un tubo en ser procesado por el sistema AUTOMATE 800, desde su identificación, centrifugado, si fuera necesario, alícuotado y distribución de su bandeja de la sección correspondiente.
- Tiempo de llegada de las muestras desde que salen del sistema AUTOMATE hasta su llegada a las secciones.
- Tiempo en el que las muestras son procesadas.
- Número y tipo de errores que se cometen.

### CONCLUSIONES:

Con esta mejora tecnológica se ha reducido la manipulación manual de las muestras y se ha conseguido una mejor trazabilidad de las mismas, las cuales están localizadas en todo momento.

Se han reducido los tiempos de espera de resultados, ya que sería imposible procesarlos en el día debido al volumen tan grande de muestras recibido.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 344

### COMPARACION DE ENZIMAS CARDIACAS EN DOS AUTOANALIZADORES

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* MARIA TERESA PARRADO CRIADO, MARIA NIEVES DIAZ PORTALES GOMEZ

*Centro de trabajo:* HOSPITAL VIRGEN DE ALTAGRACIA (MANZANARES, CIUDAD REAL)

*Provincia:* CIUDAD REAL

*Correo electrónico del primer firmante:* m.terparrado@hotmail.com

### Introducción:

Las enfermedades cardíacas son una de las principales causas de muerte en el mundo occidental. Por esta causa el laboratorio debe informar los resultados en el menor tiempo posible, resultados fiables que ayuden al diagnóstico y a predecir la evolución de la enfermedad. Un marcador bioquímico debe de ser sensible, específico y fácil de medir. Los que utilizamos en la actualidad son CK-MB, TROPONINA y MIOGLOBINA, aunque existen otros más inespecíficos. Cada marcador posee sus ventajas e inconvenientes, pero se ha demostrado que es más eficaz el empleo de dos o más marcadores seriados para el diagnóstico y evolución

### Objetivo:

Comparación de resultados de las determinaciones de CK-MB y TROPONINA I en dos analizadores diferentes (ACCESS Y AQT-90 FLEX) mediante inmunoensayos de distintas características y analizar la concordancia entre ambos.

### MATERIAL Y METODOS:

Las muestras utilizadas son suero para el analizador ACCESS y sangre total con EDTA para el AQT-90. Se procesan simultáneamente por ambos analizadores 101 muestras de pacientes obtenidas aleatoriamente en el área de urgencias de nuestro hospital, de las cuales a las 101 se les realizó la determinación de TROPONINA I y a 58 de éstas, se les realizó la determinación de CK-MB. Los rangos de referencia varían para cada analizador, considerando los descritos por cada fabricante: TROPONINA I para el ACCESS de 0,01-0,05 ng/ml y para el AQT-90 FLEX de 0,01-0,023 ng/ml. CK-MB para ACCESS de 0,3-4 ng/ml y para el AQT-90FLEX de 2-7,2 ng/ml.

### RESULTADOS:

Para la determinación de TROPONINA I, 90 muestras de las 101 fueron concordantes, de las cuales 85 fueron negativas y 5 positivas. Se observan 11 datos discordantes. Para la determinación de CK-MB, 56 de las 58 fueron concordantes, de las cuales 13 muestras fueron positivas y 43 negativas.

### Conclusión:

Se observa una buena concordancia para la determinación de CK-MB. Sin embargo para la determinación de TROPONINA existen 11 datos discordantes, teniendo todos ellos un resultado cercano al cut-off. De estos 11 datos, 6 pacientes tienen diagnóstico de disnea, 1 de insuficiencia cardíaca, 1 de insuficiencia renal crónica y 3 de ellos de diagnóstico desconocido. Estas patologías están descritas como posibles causas de elevación de TROPONINA I de forma inespecífica, lo cual indica la necesidad de hacer un muestreo mayor para valorar el efecto en los valores de referencia de determinadas patologías.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 358

### COMPARATIVA DE DOS MÉTODOS ANALÍTICOS (ENZIMOINMUNOANÁLISIS VS QUIMIOLUMINISCENCIA) EN LA DETERMINACIÓN DE LA 25-HIDROXIVITAMINA D (25-OHD)

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* SÁNCHEZ PIZARRO ELENA, GARCÍA CONTRERAS SAÚL, OTERO DEL RÍO M<sup>a</sup> DOLORES

*Centro de trabajo:* UNILABS S.L.U.

*Provincia:* MADRID

*Correo electrónico del primer firmante:* elenatt\_87@hotmail.com

## Introducción:

La vitamina D es un término colectivo utilizado frecuentemente para hacer referencia a una familia de secoesteroides estrechamente relacionados.

La concentración sérica de 25-OHD está considerada como la medida más fiable para valorar el estado global de la vitamina D y, por ello, puede utilizarse para determinar si el paciente dispone de un aporte suficiente de ésta. Esta valoración del estado de la vitamina D puede ser necesaria para determinar la causa de concentraciones anómalas de calcio sérico en pacientes.

## Objetivos:

Nuestro objetivo será la comparación de dos métodos en la determinación cuantitativa de 25-OHD en suero: enzimoimmunoanálisis (EIA), kit EIA 25 Hydroxy Vitamin D de IDS, y quimioluminiscencia (QL), kit IDS-iSYS 25-OHD.

## Material y métodos:

Se han determinado los valores séricos de 25-OHD de 58 pacientes elegidos al azar mediante:

-Analizador Personal Lab: procesador multiplaca automatizado que realiza enzimoimmunoanálisis en fase sólida (ELISA) en sueros.

-Analizador IDS-iSYS: el método se basa en la tecnología de la quimioluminiscencia (QL). La QL se define como la emisión de radiación electromagnética producida por una reacción química.

Para la comparación de métodos se calculó el coeficiente de correlación de Pearson y la recta de regresión lineal, mediante el paquete estadístico MedCalc.

## RESULTADOS:

La curva de regresión lineal  $y = ax + b$  fue calculada tomando como  $x$  los valores obtenidos en el analizador Personal Lab y como  $y$  los obtenidos en el analizador IDS-iSYS.

La recta de regresión es  $y = 0.8621 x + 6.6689$ . El coeficiente de correlación de Pearson  $R^2 = 0.8439$ .

## CONCLUSIONES:

Se obtuvo un coeficiente de correlación de Pearson muy próximo a la unidad. El test de regresión lineal no paramétrico de Passing-Bablok fue correcto, por lo que ambos analizadores son adecuados para esta determinación.

El analizador IDS-iSYS se presenta como método idóneo por su rapidez y comodidad para la rutina en la cuantificación de la 25-OHD.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 359

## ¿MODIFICA LA LUZ Y LA TEMPERATURA DE TRABAJO LA CONCENTRACIÓN DE ESPERMATOZOIDES CON MOVILIDAD PROGRESIVA A INSEMINAR?

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Lorenzo García, María Candelaria; Gonzalez Rodriguez, Carmen Delia; Valladares García, Blanca; Martín Morales, Dolores; Guimerá Gonzalez, Jose Carlos.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO NUESTRA SEÑORA DE CANDELARIA.

SERVICIO DE ANALISIS CLINICOS. SANTA CRUZ DE TENERIFE.

Provincia: Santa Cruz de Tenerife

Correo electrónico del primer firmante: tity.66@hotmail.com

## INTRODUCCION:

En el apartado de responsabilidades de las Hojas Técnicas del Laboratorio de Fertilidad viene recogido que el Técnico Especialista de laboratorio puede realizar el proceso de Capacitación espermática, supervisado por el Facultativo responsable de la Unidad.

En este sentido, a mediados de 2009 y siguiendo las directrices de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, modificamos nuestro protocolo de preparación del semen para Inseminación Artificial Conyugal (IAC) y con semen de Donante (IAD).

## HIPOTESIS:

Nos proponemos comparar si hay diferencias entre la Recuperación de Espermatozoides Móviles (REM) trabajando las muestras de semen a Temperatura ambiente, entre 20-25 ° C y en un ambiente de oscuridad, con respecto a como lo hacíamos anteriormente, que era trabajando a 37 ° C y con la luz de la cabina de flujo laminar, y todo ello con el objetivo de comprobar si aumenta la concentración de espermatozoides con movilidad progresiva a inseminar, en cada ciclo de IAC/IAD.

## Material y método:

Forman el grupo de trabajo, las pacientes del año 2008 de la Unidad de Reproducción Humana (RHU) de nuestro Hospital, a las que se les han hecho de 1 a 4 ciclos de IAC/IAD y el semen de su pareja se ha capacitado en el Laboratorio de Fertilidad trabajando a 37° C y con luz, en comparación con las pacientes tratadas en el año 2010 para las que el semen se preparó trabajando a Temperatura ambiente y sin luz.

El año 2009 queda fuera de la comparación porque trabajamos una parte del año con un protocolo, y otra parte con el protocolo nuevo.

Los datos que han conformado las variables del estudio se recogieron en una hoja Excel que luego se exportó al programa SPSS con el que se ha realizado el tratamiento estadístico.

## RESULTADOS:

En el año 2008 se trataron a 132 pacientes mediante 249 ciclos de IAC/IAD, y en el año 2010 a 162 pacientes con un total de 313 ciclos, de lo que se desprende que la media de

ciclos por paciente en ambos años fue similar y resultó ser de 1,9.

No hubo diferencias estadísticamente significativas entre la edad media de las pacientes de ambos años (32,92 vs 33,64), pero si encontramos diferencias estadísticamente significativas entre la concentración de espermatozoides móviles recuperados en el año 2008 en los 249 semen que se capacitaron, que fue de 38,76 millones de espermatozoides en los 0,5 mL de medio de inseminación, y los espermatozoides móviles recuperados en los 313 semen del año 2010, que fue de 61,64 millones de espermatozoides en los 0,5 mL a inseminar, ( $p < 0,001$ ).

## CONCLUSIONES:

Nuestra hipótesis para este trabajo se ha cumplido y tal y como nos habían recomendado, las nuevas condiciones de trabajo en cuanto a temperatura y luz para la preparación del semen para Inseminación Intrauterina, mejoran la concentración de espermatozoides móviles a inseminar.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 360

## IMPLANTACIÓN DE UN PROTOCOLO PARA LA AUTOMATIZACIÓN DEL SEDIMENTO URINARIO

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Sampayo Novoa Paula

Centro de trabajo: Complejo Hospitalario Universitario A Coruña

Correo electrónico del primer firmante: Paula.Sampayo.Novoa@sergas.es

## Introducción:

el aumento de la carga de trabajo en los Laboratorios de Atención Continuada (LAC) es un importante problema que afecta a la dinámica de su funcionamiento y puede dar lugar a condiciones adversas de trabajo con un consiguiente aumento de errores analíticos. La Sección de Orinas de nuestro LAC no es una excepción, y por ello se consideró necesario la implantación de un protocolo que disminuyera el tiempo de trabajo para la realización del sedimento urinario.

## Objetivo:

El objetivo de nuestro trabajo fue la implantación de un protocolo para la automatización del sedimento urinario y su posterior evaluación para confirmar la disminución de la carga de trabajo.

## Material y métodos:

Las muestras de orina, una vez registradas, son procesadas en el equipo automatizado de tiras de orina (Cobas e411,Roche) para la determinación de anormales (Densidad, pH, Leucocitos, Nitritos, Proteínas, Glucosa, Cetona, Urobilinógeno, Bilirrubina y Hemoglobina). Posteriormente se pasarán todas las orinas por un citómetro (UF500, Roche), que analizará solamente las que cumplan con alguno de estos criterios: proteínas >75mg/dL, hematíes >10/microlitro, Leucocitos > 25 /microlitro, Nitritos positivos. Si el citómetro no las analiza se pondrá en el informe del Sedimento: No justificada revisión microscópica. Las muestras analizadas por el citómetro serán vistas al microscopio (tras centrifugación) si en el informe del citómetro aparecen las siguientes alarmas: Cilindros Patológicos, Cristales, Células Pequeñas y Redondas, Levaduras y Conductividad. Si el citómetro no da ninguna de estas alarmas se informará: Tras citometría no precisa revisión microscópica, en caso contrario, si el informe del citómetro coincide con el microscopio se informará Comprobado informe del citómetro por microscopía convencional y si no coinciden se informará Comprobado informe del citómetro por microscopía convencional, adicionalmente se observa.... y se suprime o añade lo necesario para no informar incongruencias.

## RESULTADOS:

este protocolo se implantó en Enero del 2010, y se comprobó su utilidad durante este primer mes de implantación, comprobando que de un total de 2063 orinas analizadas, sólo fue necesario la revisión microscópica de 888 orinas, es decir, el 43%.

Discusión: con la implantación de este protocolo hemos conseguido disminuir considerablemente el tiempo de trabajo para el sedimento de orina, ya que de un 100% de orinas vistas al microscopio se pasó a ver sólo un 43% de ellas. Además el protocolo no requería tiempo extra de trabajo al estar totalmente automatizado.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 363

## MONITORIZACIÓN INTRAOPERATORIA DE LA PTH

Trabajo de:

Autor/a/s: RAMOS PÉREZ, MARÍA MAGDALENA; RODRÍGUEZ HERRERA, BENEDICTA JUANA; PÉREZ PÉREZ, PILAR; DÍAZ RODRÍGUEZ, ANGELES; LEÓN GONZÁLEZ, AMÉRICA.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria

Provincia: S/C DE TENERIFE

Correo electrónico del primer firmante: meryramosperez@hotmail.com

## Introducción:

La monitorización intraoperatoria permite la confirmación bioquímica de que todo el tejido paratiroideo hiperfuncionante ha sido resecado, consiguiéndose el éxito del procedimiento,

reflejando con mayor seguridad la exéresis completa, haciendo posible cirugías menos extensas, menos invasivas, más eficaces y con una menor morbilidad. La medición de la Parathormona intacta intraoperatoria (PTHi), debido a su corta vida media y a la rapidez de su determinación en la actualidad, permite su monitorización quirúrgica en la paratiroidectomía. Una disminución de PTHi mayor o igual al 60% del valor basal a los 10 minutos de la resección del tejido hiperfuncionante, permite la confirmación del éxito del procedimiento.

#### Objetivos:

Evaluar la experiencia en el uso de la determinación de PTHi como marcador intraoperatorio de la paratiroidectomía en el HUNSC.

#### Material y métodos:

Se estudiaron 58 pacientes (71% mujeres) sometidos a cirugía de glándula paratiroides en el periodo comprendido entre enero de 2007 y diciembre de 2010, con una edad media de 59 años (rango 18-79 años). De cada paciente se obtuvieron dos muestras: la basal antes de empezar la intervención quirúrgica y otra muestra tras 10 minutos de la extirpación. Cuando no se obtuvo una reducción satisfactoria de los niveles a los 10 minutos, se continuó la resección y se siguieron enviando muestras. Dichas muestras fueron analizadas en el ARCHITECT 2000i SR de Abbott mediante quimioluminiscencia.

#### RESULTADOS:

La monitorización mostró una reducción en los niveles de PTHi superior al 60% en la 1ª muestra post-exéresis en 39 pacientes (67%).

A 2 (10,5%) de los 19 pacientes cuyo descenso de la PTHi no alcanzó el 60%, de reducción tras la 1ª exéresis, se le continuó extirpando tejido obteniéndose reducciones de la PTHi satisfactorias en la 3ª muestra (2ª muestra tras exéresis). 15 (79%) pacientes obtuvieron reducciones satisfactorias en la 4ª muestra (3ª muestra tras exéresis) y en 2 (10,5%) pacientes no se obtuvieron reducciones significativas y el cirujano decidió no seguir extirpando tejido.

El tiempo medio de entrega de resultados fue de 25 minutos.

#### CONCLUSIONES:

La determinación de la PTHi intraoperatoria ofrece una rápida respuesta y seguridad en la intervención quirúrgica, al tiempo que permiten estudiar el perfil evolutivo de la caída de la PTHi tras exéresis glandular.

La monitorización de la PTHi intraoperatoria en el Laboratorio del HUNSC ha demostrado el éxito de la resección en el 96,6% de las intervenciones efectuadas.

La coordinación entre los Servicios de Análisis Clínicos y Cirugía es imprescindible para asegurar el correcto manejo de estos pacientes.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

**Número: 380**

### INTERFERENCIAS POR HEMOGLOBINA: A PROPÓSITO DE UN CASO

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* María del Carmen Pérez Arias, Susana Muñoz Heras, Raquel Bonilla Liberal, María Angeles Hidalgo Zamora, Susana Sánchez López, Patricia Fernández San José

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario de Getafe

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* cperezarias2002@yahoo.es

#### INTRODUCCION:

El índice hemolítico es un sistema de cuantificación espectrofotométrica de la hemoglobina libre a partir de mediciones de absorbancia biométrica y es sumamente útil para controlar el grado de interferencia por hemólisis en los parámetros bioquímicos.

La hemólisis se define como la liberación del contenido de los eritrocitos al suero o plasma, incluyendo la hemoglobina y otros componentes medidos que se encuentran en una elevada proporción en el eritrocito con respecto al suero: LACTATO DESHIDROGENASA (160 veces mayor), POTASIO (22 veces mayor), ASPARTATO AMINOTRANSFERASA (15 veces mayor) y ALANINA AMINOTRANSFERASA (3-5 veces mayor) por lo que los sueros hemolizados generan falsas elevaciones de estos analitos.

La hemoglobina por ella misma puede interferir por sus propiedades de reactividad química y propiedades espectrales ya que absorbe significativamente a la misma longitud de onda que el producto que medimos en algunos ensayos.

#### Objetivo:

Valorar si determinamos e informamos los valores de potasio, lactato deshidrogenasa, bilirrubina, aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa en el suero de un paciente con un índice hemolítico de 336, cuando la interferencia no es producida por una hemólisis intravascular sino que se debe a un fármaco que contiene hemoglobina.

#### MATERIAL Y METODO

En Agosto de 2010 el Laboratorio de Urgencias recibió una muestra de sangre de un paciente que tras ser centrifugada mostraba una particular coloración pardo-rojiza del plasma y cuyo índice hemolítico era mayor de 300, persistente en muestras sucesivas. Tras informarnos sobre el estado del paciente, supimos de su participación en un ensayo clínico consistente en la administración de un fármaco cuyo principio activo era una hemoglobina modificada atrapadora de radicales libres.

Los métodos por los que se midieron potasio, lactato deshidrogenasa, bilirrubina, aspartato aminotransferasa e índice hemolítico fueron los utilizados por el sistema COBAS 6000 de Roche según especificaciones e instrucciones del fabricante.

Para informar los resultados de las muestras a un índice hemolítico de 200-400, en nuestro laboratorio aplicamos el siguiente criterio como norma general:

	RESULTADO	COMENTARIO
POTASIO	No se informa	Hemolizado, no analizable
LACTATO DESHIDROGENASA	No se informa	Hemolizado, no analizable
ASPARTATO AMINOTRANSFERAS	No se informa	Hemolizado, no analizable
ALANINA AMINOTRANSFERASA	Se informa	Hemolizado
BILIRRUBINA	No se informa	Hemolizado, no analizable

#### RESULTADOS:

Con toda la información obtenida nosotros consideramos que:

- Podíamos informar los valores de potasio, lactato deshidrogenasa, aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa del plasma del paciente puesto que la interferencia mayoritaria no era debida a la ruptura y liberación del contenido intraeritrocitario.

- No podíamos informar los valores de bilirrubina total por las interferencias causadas por las propiedades espectrales y de reactividad química que presentan las sustancias que incorporan una estructura de hemoglobina.

#### CONCLUSIONES:

Para poder valorar si informamos un resultado sujeto a interferencias, debemos estudiar cada caso individualmente analizando: la técnica utilizada por nuestro equipo para la determinación de cada analito, hacer un seguimiento de la reacción, conocer las causas por las que se produce la interferencia e informarse de las características clínicas (patología y pautas posológicas) del paciente.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

**Número: 382**

### EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE VARIOS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* BRAVO CABELLO, FRANCISCA; GONZÁLEZ GARCÍA, Mª TERESA; FERNÁNDEZ CAMPOMANES, ROSARIO; FACAL FERNÁNDEZ, NIEVES

*Centro de trabajo:* Hospital V. Álvarez Buylla

*Provincia:* Asturias

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

#### Introducción:

La estabilidad de una magnitud bioquímica se puede definir como el periodo de tiempo en que dicha magnitud mantiene su valor dentro de unos límites establecidos. Cada laboratorio debe conocer la estabilidad de los parámetros bioquímicos en las condiciones habituales de trabajo, debido a que en ocasiones las muestras no se procesan inmediatamente tras la extracción o a que el clínico puede solicitar la adición de pruebas con posterioridad.

#### Objetivo:

Determinar la estabilidad de varios parámetros bioquímicos en las condiciones habituales de trabajo del laboratorio.

*Material y Método*

Para el estudio de la estabilidad se procesaron, diariamente, durante una semana, muestras de 50 pacientes en un autoanalizador ARCHITECT ci8200 (Abbott Diagnostics). Para calcular la variabilidad analítica asociada al método de medida, las muestras se analizaron por duplicado. Se evaluó la estabilidad de los siguientes parámetros: ácido úrico, albúmina, alanina-aminotransferasa (ALT), amilasa, aspartato-aminotransferasa (AST), bilirrubina total, calcio, creatinina cinasa (CK), cloro, colesterol, fósforo, fosfatasa alcalina, gamma-glutamilttransferasa (GGT), hierro, lactato deshidrogenasa (LDH), potasio, proteínas totales, sodio, triglicéridos y urea. Para cada parámetro se calculó la diferencia porcentual (DP) respecto al valor de referencia obtenido al procesar la muestra el día de su extracción. El límite de estabilidad se calculó mediante la fórmula  $EST = 1.65 \times CVa$ , en donde EST es la estabilidad y CVa el coeficiente de variación analítico.

Durante el estudio, las muestras se conservaron en el tubo primario y a 2-8°C, siguiendo el procedimiento habitual de trabajo del laboratorio.

#### RESULTADOS:

La mayoría de los parámetros (albúmina, ALT, amilasa, AST, bilirrubina total, CK, colesterol, fósforo, fosfatasa alcalina, GGT, hierro, LDH, triglicéridos y urea) resultaron estables durante el tiempo de duración del estudio (7 días). La estabilidad del calcio y las proteínas totales se estableció en 6 días, la de sodio, potasio y cloro, en 3 días y la del ácido úrico, en 2 días, todas ellas inferiores a las establecidas por la casa comercial.

#### CONCLUSIONES:

En nuestro laboratorio, las muestras se conservan durante 1 semana en nevera. La mayoría de las magnitudes evaluadas son estables durante este periodo pero se ha comprobado que la estabilidad de algunas de ellas es menor, lo cual debe de tenerse en cuenta a la hora de realizar repeticiones o añadir nuevas peticiones a estas muestras. La bibliografía no



muestra datos concluyentes respecto a la estabilidad de los parámetros bioquímicos, por lo que cada laboratorio debe establecer sus propios criterios en función de sus condiciones de trabajo y elaborar procedimientos que definan los límites de estabilidad, con la finalidad de evitar errores preanalíticos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 394

## COMPARACIÓN DE DISTINTOS MARCADORES EN EL DIAGNÓSTICO PRECOZ Y CERTERO DE SEPSIS.

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* Lluvia Galán, Alexandra; Hernández Enríquez, Raquel; Herrero Berrocal, María; Del Río Escribano, Concepción; Zafra Fernández, Antonio; Orea Gracia, M<sup>a</sup> Mar; Martín García, Arantxa.

*Centro de trabajo:* Bioquímica Clínica. Hospital Puerta de Hierro Majadahonda.

*Provincia:* (Madrid)

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

### Introducción:

En el laboratorio se reciben muestras de pacientes críticos con sintomatología de sepsis cuya evolución depende de la resolución temprana del agente causante. No en todas las ocasiones esta presunción de sepsis es cierta y puede ser confundida con otras patologías. Actualmente no existe un marcador altamente específico y sensible de sepsis bacteriana, por lo que debe recurrirse a una estrategia multimarcador. Existen numerosos estudios que indican que la procalcitonina es un excelente marcador de sepsis y que la inmunoneutralización de esta prohormona puede considerarse una promesa terapéutica importante. La PCT es la prohormona de la calcitonina que en los casos de sepsis, infecciones sistémicas e inflamatorias severas, eleva en gran cantidad sus concentraciones en sangre. El recuento leucocitario en sangre total, sobre todo el porcentaje de neutrófilos, está muy relacionado en la bibliografía desde hace años, con infecciones bacterianas. En el caso de la proteína C reactiva, no existe una clara correlación entre infección y cambios en sus niveles plasmáticos.

En el presente trabajo se evalúa el valor pronóstico de la procalcitonina (PCT) sérica, la PCR, el recuento leucocitario en sangre total, así como la presencia de leucocitos en el sedimento urinario, cuando la sepsis es de origen renal, con diagnóstico de sepsis.

### Material y métodos:

Estudio retrospectivo que incluye 100 pacientes consecutivos cuya muestra se recibe en el laboratorio de rutina para determinación de procalcitonina y con posible diagnóstico de sepsis. A estos pacientes se les realiza determinación de PCT y PCR en suero, recuento leucocitario en sangre total con EDTA (con determinación de la proporción de neutrófilos) y, en caso de recibirse orina, recuento de leucocitos en sedimento urinario. Mediante la base de datos del hospital SELENE (Siemens), se conoce el diagnóstico final de estos pacientes, clasificándolos en dos grupos: Sepsis y No Sepsis. La determinación de procalcitonina se ha realizado por análisis inmunoluminométrico LUMitest® PCT (Atom, Brahms Diagnostica® GmbH) que utiliza dos anticuerpos monoclonales específicos y precisa 20 µl de suero o plasma. El valor de la PCR se obtuvo por la técnica de inmunoturbidimetría (Advia, Siemens). El recuento leucocitario se realiza en citómetro (Sysmex, Roch2). De los 100 pacientes, el 51 % eran mujeres, la edad media es de 60 años y el 29 % tiene un diagnóstico final de sepsis. Se realiza análisis estadístico mediante el paquete informático SPSS v.19.0.

### RESULTADOS:

Tras estudio de los distintos marcadores por separado, se determina que ninguno de ellos presenta distinción por edad ni sexo, en el grupo de población estudiado. Tanto la PCT como los leucocitos, presentan diferencias significativas en los dos grupos de diagnóstico. No así para el resto de marcadores. En resumen, el 2,9 % de los pacientes con sepsis tienen valores de procalcitonina negativos y el 42,4 % de pacientes con sepsis tienen valores de procalcitonina positivos; el 26,6 % de los pacientes con sepsis tienen valores de PCR negativos y el 38,1 % de pacientes con sepsis tienen valores de PCR positivos; el 11,8 % de los pacientes con sepsis tienen valores de leucocitos en sangre normales y el 46,9 % de pacientes con sepsis tienen valores de leucocitos elevados. Ninguno de los marcadores presenta relación con otro en cuanto a su comportamiento para el diagnóstico de sepsis. La combinación de marcadores presenta mejoría en cuanto al porcentaje de pacientes correctamente diagnosticado. En el caso de la combinación PCT-recuento leucocitario, se obtiene un mejor porcentaje de acierto. En el caso del recuento de leucocitos en orina, no existen datos suficientes para valorar su eficacia diagnóstica.

### CONCLUSIONES:

la determinación de PCT en las primeras horas de un paciente con posible diagnóstico de sepsis, tiene gran utilidad clínica, sobre todo combinado con el recuento leucocitario (78,6 % del diagnóstico de sepsis). Esta combinación ofrece una gran ventaja clínica para el tratamiento precoz de pacientes con sepsis. La PCR no demuestra una clara utilidad para el diagnóstico, por lo que se necesitarían estudios mayores para incluirla o excluirla como parte de la terapia multimarcador.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 417

## EVOLUCIÓN DE LAS TRANSAMINASAS TRAS UNA INTOXICACIÓN ALIMENTARIA POR LA INGESTA DE MANITA FALOIDES

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* María del Carmen de la Fuente Huerga; Antonia María García Palomo; María Arcones López; Jesús Gutiérrez Juárez; Lourdes García García; Vanesa Fernández Arias; Carmen Lara Rosa; Gines Montes Vaquero.

*Centro de trabajo:* Hospital General de Ciudad Real.

*Provincia:* Ciudad Real

*Correo electrónico del primer firmante:* m.c.fuente@hotmail.com

### Introducción:

La manita faloides es la responsable del 2-10% de las intoxicaciones por setas y del 90% de las que causan la muerte. Sus potentes toxinas termoestables, amanitina y faloidina, son las responsables de un cuadro clínico característico denominado Síndrome falloide que cursa con un proceso gastrointestinal, delirio, convulsiones, tubulopatía renal y en el peor de los casos daño hepático en forma de necrosis hepatocelular con una marcada elevación de las transaminasas y una reducción de la protrombina.

### Objetivo:

Estudiar la necrosis hepatocelular observando la evolución de las transaminasas (AST/GOT-GPT/ALT) en muestras serológicas en cuatro pacientes con una intoxicación alimentaria por el consumo de Manita Faloides.

### Material y método:

El estudio se ha realizado en el suero de los 4 pacientes a estudio, los analizadores utilizados son LX de IZASA pertenecientes al laboratorio de urgencias.

### RESULTADOS:

En la gráfica del paciente 1 comenzó con unos valores normales, pero al cabo de unas horas se observa un incremento progresivo de GOT y GPT hasta alcanzar cifras por encima de 1020 UI/L.

En el caso del paciente 2 sucede lo mismo, pero con un aumento de las transaminasas más elevado, hasta llegar a 2437 UI/L.

En la siguiente gráfica correspondiente al paciente 3 se observa un pico elevadísimo (GPT: 8114 UI/L GOT: 5834 UI/L), tras el cual van decreciendo hasta llegar a los valores normales, esto es como consecuencia del fallo hepático debido a la necrosis del hepatocito que no es capaz de producir más enzimas.

Por último, en el caso de la gráfica 4, las transaminasas están elevadas pero se mantienen en ese máximo controlado por la hemodiálisis, hasta llegar al último análisis con una GPT: 1352 UI/L y una GOT: 1140 UI/L.

### CONCLUSIONES:

Tras la ingesta de manita faloides, se observa un aumento de las transaminasas lo que produjo en cada paciente un fallo hepático irreversible. Para la eliminación de la toxina se realizó a cada paciente hemodiálisis. Fue efectiva en todos excepto en el paciente 3 que falleció; los otros tres pacientes requirieron de trasplante hepático.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 418

## ESTUDIO DE LA POSIBLE INTOXICACIÓN POR SALICILATOS EN UN LABORATORIO DE URGENCIAS EN EL PERÍODO 2004-07.

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* Jesús Gutiérrez Juárez; María del Carmen de la Fuente Huerga; María Arcones López; Antonia María García Palomo; Angel San Miguel Hernandez

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Río Hortega

*Provincia:* Valladolid

*Correo electrónico del primer firmante:* otroyyo@yahoo.es

### Introducción:

Los salicilatos son un grupo de analgésicos no adictivos que también tienen efectos antipiréticos, antiinflamatorios y antirreumáticos en humanos. La ingestión accidental de salicilatos continúa siendo la causa más frecuente de toxicidad por fármacos en niños de edad preescolar.

También se ha observado toxicidad en pacientes en tratamiento crónico con salicilatos. La administración crónica de salicilato genera una concentración terapéutica de aproximadamente 60 µg/mL. En el tratamiento de la artritis reumatoide se administran grandes dosis de salicilato para obtener una concentración terapéutica de salicilato de 150-300 µg/mL.

Existen muchas técnicas para determinar las concentraciones séricas de salicilato, entre ellas la cromatografía de gases (GC), el ensayo inmunoanalítico, el método espectrofotométrico y el inmunoanálisis de fluorescencia.

### Objetivos:

Analizar la demanda de peticiones de salicilatos en sangre del Laboratorio de Urgencias y

conocer los distintos tipos de intoxicaciones por salicilatos y en los casos de policonsumo y las reincidencias en caso de existir.

#### Material y métodos:

Las determinaciones de salicilatos se realizaron mediante el análisis DRI® Salicilato Serum Tox, que es un método espectrofotométrico que utiliza reactivos líquidos listos para su uso, automatizado en un autoanalizador Olympus AU400. El análisis mide la intensidad de la absorbancia a 540 nm, que es una característica de un complejo férrico formado por salicilato con nitrato férrico en un medio ácido. La intensidad medida a 540 nm es directamente proporcional a la concentración de salicilato en la muestra de suero.

A partir del programa informático Modulab Win se obtuvo una base de datos de todas las peticiones de salicilatos que se habían realizado durante los años 2004-2007.

#### RESULTADOS:

El total de peticiones realizadas en nuestro Laboratorio de Urgencias fue de 1039 entre los años 2004 al 2007. Las peticiones con resultado positivo fueron 321 (30.9%), distribuidas por años: 2004: 84 positivos, 2005: 71 positivos, 2006: 79 positivos y 2007: 87 positivos; de las cuales 101 eran varones y 220 mujeres. El consumo se distribuyó: monoconsumidores: 291(90.7%) y 30 policonsumidores: (9.3%). Se observaron 3 casos de reincidencia entre los policonsumidores

#### CONCLUSIONES:

Las concentraciones séricas de salicilato de más de 300  $\mu$ g/mL suelen asociarse a toxicidad. Los efectos tóxicos graves se producen cuando la concentración sérica llega a 500  $\mu$ g/mL. La observación de la concentración de salicilato es de gran ayuda al clínico para poder evaluar el grado de envenenamiento y a determinar los pasos de la desintoxicación.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 426

### COMPARACION DE DOS METODOS DE DETERMINACIÓN DE ALBÚMINA EN LÍQUIDO DE DIALISIS PERITONEAL.

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Dolores Rodríguez Martel, Marcos José Rodríguez del Rosario, Maria del Carmen Acevedo Gil, Iluminada Ramos Nuez, José Luis bernal Galán, Elisa del Carmen Montesdeoca Quintana

Centro de trabajo: HOSPITAL DE GRAN CANARIA DOCTOR NEGRN.

Provincia: Las Palmas

Correo electrónico del primer firmante: loly\_adj@hotmail.com

#### Introducción:

La pérdida de proteínas por el peritoneo es una de las complicaciones más importantes de la diálisis peritoneal (DP). Puesto que la albúmina es la proteína que se elimina en mayor cantidad en la DP, es importante, cuantificar la pérdida de la misma en los líquidos de drenaje peritoneal, durante la realización del estudio de calidad de diálisis de la cicladora.

#### Objetivo:

Comparación de dos métodos de determinación de albúmina en drenajes peritoneales.

#### Material y métodos:

Se realiza la determinación de albúmina en 65 muestras de líquidos de diálisis peritoneal por dos métodos. A: un método inmunoturbidimétrico en un módulo P, de un Modular-DPP (Roche Diagnostics), y B: un método inmunonefelométrico, en un nefelómetro BNProSpec (Siemens).

Para el estudio estadístico se emplea el paquete estadístico SPSS 15.

#### RESULTADOS:

Las medias y desviaciones estándar obtenidas son: método A: 35.33  $\pm$  41.55 mg/dl y método B: 34.16  $\pm$  43.43 mg/dl. con buena correlación entre medias. Intervalo de confianza del 95%.

Al realizar el estudio de correlación encontramos un coeficiente con un valor de  $r = 0.986$ .

#### CONCLUSIONES:

Ambos métodos, inmunonefelometría e inmunoturbidimetría, presentan una buena correlación para la determinación de albúmina en los líquidos de drenaje peritoneal.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 436

### ANÁLISIS CELULAR DE LÍQUIDOS BIOLÓGICOS: ESTUDIO DE TRANSFERIBILIDAD DE RESULTADOS: ENTRE LA MEDIDA AL MICROSCOPIO (4 OBSERVADORES) Y AUTOMATIZADA (XE-5000)

Trabajo de: Bioquímica

Autor/a/s: Erkiaga Cortes, Miren Elisabete; Acha Azurmendi, Aranzazu; Larisgoitia Urquijo, Nagore; Urrutia Mintegui, Ainhoa

Centro de trabajo: Hospital Galdakao-Usansolo

Provincia: Bizkaia

Correo electrónico del primer firmante: MIRENELISABETE.ERKIAGACORTES@osakidetza.net

#### Introducción:

El análisis de líquidos biológicos es esencial para el correcto diagnóstico y tratamiento de diversas patologías, y por tanto, el proporcionar resultados fiables y rápidos es de vital importancia para el paciente. Los líquidos biológicos que se reciben con mayor frecuencia en el laboratorio son el líquido cefalorraquídeo (LCR), los líquidos serosos (pleural, ascítico, peritoneal, pericárdico), líquido sinovial y drenajes. El método de referencia para el análisis de líquidos biológicos es el recuento celular en cámara citométrica (Neubauer, Fuchs-Rosenthal,...), seguida del recuento diferencial en extensión. Esto requiere personal cualificado y mucho tiempo de dedicación. El avance en la tecnología de los analizadores hemocitométricos actuales parece posibilitar el análisis fiable de fluidos biológicos de forma automatizada.

#### Objetivos:

Estudiar la transferibilidad de resultados para el análisis celular de líquidos biológicos entre la medida manual y automática mediante la comparación de los resultados obtenidos en el analizador Sysmex XE-5000 con la lectura al microscopio por cuatro observadores.

#### Material y métodos:

Se analizaron 53 líquidos biológicos que llegaron al Servicio de Urgencias del Hospital por el método rutinario, en nuestro caso el XE-5000. Ése mismo día, cuatro técnicos de laboratorio realizaron el recuento leucocitario y eritrocitario en cámara Neubauer y la fórmula leucocitaria si procedía (según protocolo de laboratorio: LCR (> 4 leucocitos/ $\mu$ L); pleural, ascítico, pericárdico (>250 leucocitos/ $\mu$ L); sinovial (>200 leucocitos/ $\mu$ L); drenaje (>100 leucocitos/ $\mu$ L)) de forma ciega al resultado obtenido en el analizador y al del resto de las observadoras.

Los líquidos analizados fueron 8 LCR, 22 pleurales, 16 ascíticos, 4 sinoviales, 1 pericárdico y 2 drenajes.

Para la comparación entre observadores se calculó la media de los coeficientes de variación entre los cuatro observadores para el recuento leucocitario, eritrocitario y fórmula leucocitaria y se analizó la diferencia entre las medias de cada parámetro.

La comparación entre la media del recuento al microscopio y el analizador XE-5000 se realizó mediante Passing-Bablok.

#### RESULTADOS:

Los coeficientes de variación medios obtenidos entre observadores para el recuento eritrocitario y leucocitario no superaron el 10% no observándose diferencias entre los observadores para los parámetros medidos. Por ello, se utilizó la media de las mediciones realizadas por los cuatro observadores para realizar la comparación con el recuento automatizado.

Al aplicar Passing Bablock entre las lecturas manuales y el Sysmex XE-5000, se obtuvo una ordenada en el origen de 59,4 (IC95%: -14,9-137), pendiente de 1,399 (IC95%: 1,29-1,554) y  $r=0,998$  para los hematíes, y una ordenada en el origen de 0,9 (IC95%: -8,8-8,9), pendiente de 1,125 (IC95%: 1,086-1,207) y  $r=0,98$  para los leucocitos.

La fórmula leucocitaria se realizó en 38 líquidos biológicos. El coeficiente de variación medio obtenido fue de 11,17. Al aplicar Passing-Bablok entre la media entre observadores y el XE-5000 se obtuvo una ordenada en el origen de 2,4 (IC95%: 1-3,8), pendiente de 0,967 (IC95%: 0,939-1,0) y una  $r=0,99$ . Considerando el 50% de polimorfonucleares como límite con significación clínica, el grado de acuerdo entre la lectura manual al microscopio y la lectura automática en el Sysmex es del 100% en los 38 líquidos en los que procedió realizar fórmula diferencial.

#### CONCLUSIONES:

Las medias de los coeficientes de variación obtenidos entre observadores son relativamente bajas teniendo en cuenta que es uno de los factores que más puede influir en la lectura manual de líquidos biológicos, siendo los resultados de todas ellas transferibles entre sí. En la comparación entre la lectura manual y la automática se obtiene una alta correlación y concordancia.

Podemos concluir que el XE-5000 es una herramienta de ayuda en la rutina para el análisis de líquidos biológicos con resultados fiables en poco espacio de tiempo.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 438

### RELACIÓN ENTRE MICROHEMATURIA Y LA MICROALBUMINA EN LA PREDICCIÓN DE FUTURA ENFERMEDAD RENAL

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Roviroa Reverte Mònica, Alvarez Funes Virtudes, Ventura Pedret Salvador, Arroyo Montiel Belen, San Martin Martinez Dorotea.

Centro de trabajo: Institut Català de la Salut

Laboratori Clínic L. Hospitalet-Cornellà

Provincia: BARCELONA

Correo electrónico del primer firmante: alienaberga@hotmail.com

#### RESUMEN:

La microhematuria es un indicador precoz del daño renal, así como la pérdida de albúmina por la orina. Generalmente se valora mucho la secreción de Microalbumina en orina como factor predictivo de cara a la evolución de futura enfermedad renal.

## Objetivo:

El objetivo de nuestro trabajo consiste en ver si aparecen conjuntamente estos dos parámetros, en pacientes asintomáticos.

## Material y métodos:

Se seleccionaron 500 orinas al azar de las cuales 115 tenían hematuria y se les determinó la Microalbumina y se cuantificaron los cilindros si los hubiera.

Las Microalbuminas se determinaron por inmunoturbidimetría en un autoanalizador Olympus modelo AU2700. La citología de la orina se determinó en un citómetro modelo UF1000 de Sysmex.

## RESULTADOS:

Los resultados en referencia entre hematuria y microalbumina elevadas pertenecen a un 7,60% mientras que hematuria normal y microalbumina elevada representa un 15,40% siendo el 77% restante pertenece a hematuria y microalbumina normal.

Del 7,60% podemos decir que sólo el 3,40% tienen presencia de cilindros siendo el mismo resultado para la hematuria normal y la microalbumina elevada.

## CONCLUSIÓN

Se observa que en el grupo con hematuria pero sin cilindros no se asoció con microalbumina elevada ni con presencia de cilindros. En cambio en el grupo de las muestras con la alarma de hematíes esta se asocia a la presencia de Mau elevada y de cilindros.

Aunque la presencia de microhematuria se pueda deber a varias causas, las hematurias de origen renal, se asocian a un incremento de Microalbumina

## BIBLIOGRAFIA

1)Value of urinary excretion of microalbumin in pred\_\_\_\_ [Pediatri Nephrol\_ 2005] - PubMed result.htmPediatri Nephrol. 2005 Aug;20(8):1131-5. Epub 2005 Jun 8. Assadi FK.Division of Nephrology, Department of Pediatrics, Rush University Medical Center, Chicago, IL 60612, USA. fassadi@rush.edu

(2) [Microalbumin excretion in the group of patients with asymptomatic hematuria].htm Nippon Jinzo Gakkai Shi. 1992 Mar ;34 (3):273-7 1352833 [My paper] S Nakamura, T Azuma 2nd Department of Medicine, Hokkaido University School of Medicine, Sapporo, Japan. Estos no se ajustan a las normas establecidas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 439

## ESTUDIO DE LA ACCIÓN DE LA TEMPERATURA DE LA ORINA EN LA INFORMACIÓN QUE NOS PROPORCIONA LA TIRA

Trabajo de: Bioquímica

Autor/a/s: Rovirosa Reverte Mònica, Ventura Pedret Salvador, Manchado Jimenez Rafaela, Ribodigo Perez Mª Dolores.

Centro de trabajo: Institut Català de la Salut Laboratori Clínic L'Hospitalet-Cornellà

Dirección del primer firmante:

Provincia: BARCELONA

Correo electrónico del primer firmante: alienaberga@hotmail.com

## RESUMEN:

Es bien sabido que la orina es una muestra muy labil a los agentes externos, una de las prácticas que, a veces, suele hacer el paciente, si no está bien informado, es guardar la muestra en nevera antes de remitirla al laboratorio para su procesamiento. También la práctica de su almacenamiento es frecuente en muchos sitios. En este estudio se hace una comparativa de una serie de muestras de orina antes y después de ser guardadas en nevera.

## Objetivo:

Estudiar la influencia del descenso de la temperatura en los analitos que proporciona la tira de orina

## Material y métodos:

Se usa un procesador de tiras de orina, modelo Aution Max de Menarini, para el estudio de 73 muestras de orina al azar en el mismo día de recogida y las mismas 24 horas después de estar en nevera.

Las tiras de detección pertenecen a la misma marca citada anteriormente. Los parámetros analizados son: Glucosa, C te tónicos, Hematíes, leucocitos, proteínas, Ph., densidad, Nitritos, Bilirrubina y los resultados se tratan estadísticamente.

## RESULTADOS:

A pesar que no hay unos resultados muy contundentes si que se muestran cambios en los siguientes parámetros:

Proteínas: 33 de las 73 orinas presentan proteínas de las cuales 5 su valor disminuye a la mitad y 1 se negativiza para este parámetro. Lo que significa que un 18,18% de las proteínas positiva han disminuido o negativizado su valor.

Hematíes: 15 de las 73 orinas presentan hematíes de las cuales 3 su valor disminuye a la mitad y 4 se negativiza para este parámetro. Lo que significa que un 46,66% de los hematíes positivos han disminuido o negativizado su valor.

Leucocitos: 18 de las 73 orinas presentan leucocitos de las cuales 5 su valor disminuye a la mitad. Lo que significa que un 27,77% de los leucocitos positivos han disminuido su valor.

Nitritos: 4 de las 73 orinas presentan nitritos de la cual 1 se negativiza para este parámetro. Lo que significa que un 25% de los nitritos positivos han negativizado su valor.

Densidad: 48 de las 73 orinas aumenta entre 1 y 3 puntos la densidad. Lo que significa que un 65,45% de orinas han aumentado su densidad

Color: 4 de las 73 orinas aumenta pasando de cororless (descolorido) a yellow (amarillo).

Lo que significa que un 5,48% de orinas han cambiado su color.

El resto de parámetros no muestra cambios.

## CONCLUSIONES:

Según los resultados obtenidos, observamos que la acción del frío afecta a la densidad de la orina, aumentado esta. En otros parámetros, al no haber un número suficiente de muestras no se pueden llegar a unas conclusiones definitivas en cuanto a la acción del frío sobre ellos, por tanto, en los casos que se ha observado alguna modificación, como es en los casos de hematíes, proteínas, leucocitos y nitritos, se deberían hacer estudios con muestras mas numerosas para comprobar estos cambios

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 458

## VALORES CRITICOS EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Mª Dolores Díaz Zayas, Montserrat López Gutierrez, Teresa Jimenez Jimenez

Centro de trabajo: H.C AXARQUIA

Provincia: Málaga

Correo electrónico del primer firmante: jmyonte@hotmail.com

## Objetivo:

Establecer los valores críticos sin histórico detectados en el Area Este de Málaga-Axarquía en una semana y destacar la importancia de la necesidad de la brevedad en la emisión de los resultados, para evitar posibles alteraciones que puedan amenazar la vida del paciente.

## MATERIAL Y METODOS:

Se realiza estudio de detección de parámetros críticos, durante ocho días consecutivos, a 1022 muestras pertenecientes a 667 pacientes a los que han solicitado peticiones urgentes y que carecían de histórico previo.

Las muestras extraídas se obtienen por punción venosa a pacientes atendidos en el servicio de urgencias del H.C Axarquía.

Se realiza las determinaciones a partir de suero y sangre total EDTA centrifugada.

## RESULTADOS :

De las 1022 muestras pertenecientes a los pacientes asistidos con carácter urgente se obtienen los resultados que mostramos a continuación:

Determinaciones	Troponina a > 0,1 mg/l	CKMB >2,88 ng/ml	NA < 120 mmol/l > 6,2 mmol/l	K <2,8 mmol/L > 6,2 mmol/L	GLUCOSA < 45 mg/ dl > 450 mg/dL	CK > 6,6 g/ 1000 U/l > 19,9 g/dl	HB < 7,4 mg/dl	CREATININA > 7,4 mg/dl	LEUCOCITOS < 2000 /ul	> 50000 ul	AMILASA > 615 U/L	ALT > 1500 U/l
Frec.Valores criticos	5	3	2	3	2	2	6	2	2	1	1	

## CONCLUSIONES:

Los resultados obtenidos en el presente estudio indican el número de resultados con valores críticos del Servicio de Urgencias de Nuestra Área de Salud. Esto debe de servir al Clínico para evitar complicaciones posibles que puedan producir una gravedad en el estado del paciente.

Los tiempos para emitir estos resultados deberían contarse en minutos, emitirse con dinamismo y rapidez y, planteamos tomar medidas que permitan la información precoz, con el fin de evitar consecuencias que puedan derivar en un riesgo que comprometa la vida del paciente y permitir tomar decisiones terapéuticas inmediatas.

Se deben buscar alternativas de información seguras, eficaces y rápidas, ante la detección de resultados analíticos con valores críticos o alarmantes.

# GENÉTICA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 010

## ABORTADORA PORTADORA DE UNA REESTRUCTURACION CROMOSOMICA COMPLEJA CCRs

Trabajo de: Genética.

Autor/a/s: M<sup>a</sup> Blanca Ferrer Giménez.M<sup>a</sup> Belén Villanueva Barba.Mercedes Bassecourt Serra.M<sup>a</sup> José Alcaine Villarroja.M<sup>a</sup> Teresa Calvo Martín.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Miguel Servet .Zaragoza

Provincia: Zaragoza

Correo electrónico del primer firmante: blanca.ferrer@hotmail.es

### Introducción:

Las reestructuraciones cromosómicas complejas (CCRs) son muy infrecuentes. Los diagnósticos en pacientes abortadoras son importantes de cara a dar un buen consejo genético. Dada la cantidad de situaciones posibles en desequilibrio en la meiosis, la cuantía de riesgo de casos desequilibrados es difícil de precisar.

### Objetivos:

Caracterización de una triple translocación detectada en una pareja remitida a consulta de citogenética por abortos de repetición.

### Material y métodos:

Estudio citogenético en sangre periférica tras cultivo, con técnicas de bandas convencionales GTG, QFQ, que muestran patrón de bandas alterado en tres cromosomas.

Técnicas de hibridación in situ fluorescentes (FISH) con sondas painting XCP cromosoma 7,10,13 y de secuencia única LSI Cr 13 y telomérica brazo largo Cr 7q (Visys®).

Estudio citogenético en sangre periférica de la pareja, de forma paralela.

Estudio citogenético en sangre periférica a los padres de la paciente para poder determinar si se trata de una translocación familiar o de novo.

### RESULTADOS:

Formulas cromosómicas:

Esposa: 46,XX t(7;10;13)(p21;q24,q21) de novo

Marido: 46,XY sin alteraciones estructurales.

Progenitores : normales .No es necesario ampliar estudio a nivel familiar.

### CONCLUSIONES:

La paciente es portadora de una reestructuración compleja que implica a los cromosomas 7,10,13, cuyo resultado es la modificación estructural de los mismos, con rotura y reunión en las bandas 7p21,10q24, y 13q21.

Gracias a la combinación de las distintas técnicas, se pudo diagnosticar ésta CCR aparentemente equilibrada, pero con importante implicación en su descendencia: más de un tercio de la descendencia portará la translocación en desequilibrio, siendo menor la posibilidad de translocaciones balanceadas y de normalidad cromosómica, situaciones detectables por diagnóstico citogenético prenatal.

Dada la complejidad estructural se desaconseja el diagnóstico preimplantacional.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 011

## TRANSLOCACION CROMOSOMICA DE NOVO CON AFECTACION FENOTIPICA

Trabajo de: Genética.

Autor/a/s: M<sup>a</sup> Blanca Ferrer Giménez.M<sup>a</sup> Belén Villanueva Barba.Mercedes Bassecourt Serra.M<sup>a</sup> José Alcaine Villarroja.M<sup>a</sup> Teresa Calvo Martín.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Miguel Servet .Zaragoza

Correo electrónico del primer firmante: blanca.ferrer@hotmail.es

### Introducción:

Las translocaciones cromosómicas de novo en diagnóstico prenatal representan un desafío. Basándose únicamente en la citogenética convencional puede ser difícil identificar las regiones cromosómicas involucradas y los genes afectados.

Un 10% de éstos individuos, aunque aparentemente son equilibrados, presentan algún tipo de retraso mental y/o malformaciones, probablemente debido a que el punto de ruptura ha dañado un gen, o ha producido una pequeña pérdida de material genético.

### Objetivo:

Confirmar el estudio citogenético prenatal realizado en gestante de embarazo gemelar de 20 semanas, remitida a la consulta de genética clínica por marcador ecográfico de cardiopatía en el primer gemelo y arteria umbilical única en el segundo.

Concluido el estudio en la semana 22, se observa una traslocación: t(3,22) en el primer gemelo. El segundo gemelo presenta cariotipo normal.

La niña al nacimiento presenta bajo peso y Apgar 7/8, fenotipo peculiar, fisura palatina y

comunicación interventricular.

### Material y métodos:

- Técnica de hibridación in situ fluorescente (FISH) interfásico para aneuploidías con sonda AneuVision (Vysis®)

- Doble cultivo de amniocitos en ambas gemelas, con aplicación de técnicas de bandas GTG.

- FISH con sondas painting XCP cromosoma 3, XCP cromosoma 22 y sonda de secuencia única LSI Di George (22q 11,2).

- Estudio citogenético de forma paralela en sangre periférica de los progenitores con técnicas convencionales de bandas GTG.

- Estudio citogenético en sangre periférica, tras el nacimiento de ambas gemelas, con bandas GTG.

Resultado:

Formula cromosómica fetal y de la niña tras el nacimiento:

46,XX t(3;22)(p13;q12) de novo .

Cariotipo de los progenitores y segunda gemela normales.

El cariotipo de la niña confirma el diagnóstico prenatal de translocaciones entre los cromosomas 3 y 22 con puntos de rotura en las bandas p13 y q12 de ambos cromosomas, pero el cuadro clínico que presenta evidencia un desequilibrio génico producido por una posible pérdida de material genético, y hace suponer que se trata de una translocación desequilibrada .

### CONCLUSIONES:

La gran dificultad de dar un consejo genético en éste estudio prenatal está determinada:

a) gestación avanzada, de 20 semanas, mediante técnicas de reproducción asistida, b) embarazo gemelar con una sola de las gemelas afecta c) la reestructuración que presenta el feto es una translocación de novo aparentemente equilibrada.

Quando se diagnostica una translocación en un estudio prenatal, el riesgo del feto es sensiblemente mayor en las translocaciones recíprocas de novo que en las familiares.

El estudio de la recién nacida y la evolución clínica nos hace sospechar se trate de una translocación desequilibrada por una posible pérdida de material genético que no se pudo confirmar con técnicas de biología molecular dado que la niña falleció a los pocos meses.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 013

## LA DETECCIÓN DE CÉLULAS TUMORALES CIRCULANTES (CTCs) ES FACTOR PRONÓSTICO PARA LA SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) Y LA SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) EN PACIENTES CON CÁNCER COLORRECTAL QUE ESTÁN RECIBIENDO SU PRIMERA LÍNEA DE TRATAMIENTO CON XELOX Y BEVACIZUMAB. ESTUDIO COORDINADO DE TTD.

Trabajo de: Genética.

Autor/a/s: M<sup>a</sup> Carmen Díaz Gonzalez, Beatriz Mediero Valeros, Virginia de la Orden García, Encarnación Jerez Lomas, Marta Vidaurreta Lázaro, Javier Sastre Valera ,M<sup>a</sup> Luisa Maestro de las Casas, Eduardo Díaz-Rubio.

Centro de trabajo: Hospital Clínico San Carlos. Servicio de Análisis Clínicos.

Correo electrónico del primer firmante: mcarmendiaz@wanadoo.es

### Introducción:

recientemente Tol et Al. (Ann Oncol 2009) han demostrado que el recuento de CTCs es factor pronóstico para SG y SLE en pacientes con cáncer colorrectal avanzado. Con el fin de confirmar estos resultados en nuestra población, se ha desarrollado un estudio auxiliar en pacientes incluidos en el estudio TTD MACRO (ASCO 2010, 3501). Los pacientes de este estudio recibieron quimioterapia con XELOX y bevacizumab.

### Método:

se reclutaron 180 pacientes randomizados de los 480 incluidos en el estudio macro. Se tomó una muestra de sangre antes de iniciar el tratamiento en todos los pacientes y una segunda muestra tras recibir 3 ciclos de XELOX + bevacizumab en 149 de ellos. Se determinaron las CTCs utilizando Cell Search System (Veridex). Para el análisis se estableció un punto de corte de  $\geq 3$  CTCs/ 7,5mL y otro de  $\geq 2$  CTCs/ 7,5mL de acuerdo con la literatura.

### RESULTADOS:

La mediana de CTCs detectadas en las muestras iniciales fue 2 [0-1042]. El 47% de los pacientes tenía un recuento  $\geq 3$  CTCs/ 7,5mL en la muestra inicial. Después de tres ciclos de quimioterapia la mediana de CTCs detectadas fue 0 [0-99], con un 15% de muestras con 3 o más CTCs. La relación de las CTCs y la SG y la SLE se muestra el la siguiente tabla:

Comparativa CTCs	SG (meses)	p	HR	SLE (meses)	p	HR
Muestra inicial < 3	12.0	0.0002	1.94	25.6	0.0017	2.02
Muestra inicial $\geq 3$	7.8			16.6		

Comparativa CTCs	SG (meses)	p	HR	SLE (meses)	p	HR
Segunda muestra < 3 Segunda muestra ≥ 3	11.0 7.8	0.0050	2.10	25 16.2	0.0090	2.20
Muestra inicial < 2 Muestra inicial ≥ 2	9.7 7.8	0.1804	1.50	23.1 16.2	0.2188	1.51
Segunda muestra < 2 Segunda muestra ≥ 2	12.77 9.70	0.0051	1.80	25.6 23.1	0.0543	1.70

Para el punto de corte ≥ 2 CTCs/ 7,5mL las curvas de supervivencia fueron similares.

#### CONCLUSIONES:

El recuento de CTCs inicial y después de tratamiento son factores pronósticos para la predicción de SG y SLE en pacientes con cáncer colorrectal metastático tratados con XELOX y bevacizumab.

Financiado por ROCHE y Sanofi - Aventis

Grupo cooperativo TTD

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 014

### POLIMORFISMOS DEL GEN DEL FACTOR DE CRECIMIENTO VASCULAR ENDOTELIAL (VEGF) EN PACIENTES TRANSPLANTADOS RENALES TRATADOS CON INHIBIDORES DE MTOR.

Trabajo de:

Autor/a/s: Beatriz Mediero Valeros, M<sup>a</sup> Carmen Díaz Gonzalez, Virginia de la Orden García, Encarnación Jerez Lomas, Marta Vidaurreta Lázaro, Ana Isabel Sánchez Fructuoso, M<sup>a</sup> Luisa Maestro de las Casas

Centro de trabajo: Hospital Clínico San Carlos. Servicio de Análisis Clínicos.

Provincia: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: bea.medierovaleros@gmail.com

#### Introducción:

El factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) puede estar asociado a los mecanismos implicados en la aparición de proteinuria asociada con los inhibidores de la proteína mTOR (imTOR).

Los mTOR inhiben la estimulación de los receptores del VEGF y disminuyen la producción de este factor. Los polimorfismos del gen VEGF puede afectar a la aparición de la proteinuria.

El objetivo de este trabajo fue determinar los polimorfismos de VEGF en pacientes en los que se inicia tratamiento mTOR.

#### Método

Hemos estudiado los siguientes polimorfismos: +936C>T, -1154G>A, y -2578C>A en 203 pacientes trasplantados renales en los que se aplicó mTOR.

Se obtuvo una muestra de 3 ml en tubos con EDTA de cada uno de los pacientes.

La extracción del DNA de cada una de las muestras se realizó siguiendo las indicaciones del Dneasy Mini Kit (Qiagen). La concentración de DNA obtenida se valoró con un nanodrop. Cuando la pureza de la muestra no era la adecuada se repitió el proceso de extracción.

El análisis de los polimorfismos se realizó por PCR a tiempo real. Para cada polimorfismo se emplearon un par de cebadores específicos y un par de sondas marcadas diferencialmente diseñadas para discriminar entre las bases específicas de los polimorfismos. La reacción de amplificación se realizó en un Smart Cycler.

#### RESULTADOS:

Las muestras se considerarán homocigotas cuando solo se observó una curva de amplificación. En las muestras heterocigotas se observa curva de amplificación en las dos sondas.

La frecuencia de los polimorfismos de único nucleótido (SNP) fue la siguiente:

936C>T (76.88% CC, 20.7% CT, 2.5% TT); 1154G>A ( 11.8% AA, 37.9% GA, 48.3% GG, 2% indeterminado); y 2578C>A ( 21.2% AA, 50.7% AC, 28.1% CC).

#### CONCLUSIONES:

La PCR a tiempo real es una técnica fiable y reproducible para determinar la presencia de polimorfismos en el gen VEGF. Además esta técnica permite obtener resultados en un plazo entre dos y tres horas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 015

### ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LAS MUTACIONES MÁS PREVALENTES DEL GEN K-RAS EN PACIENTES CON CÁNCER DE COLON

Trabajo de: Genética.

Autor/a/s: Díaz Díaz Angeles María; Ortiz García Juan Diego; Salas Molero María del Carmen; Romero Redondo Rafela; Ruiz Nuñez Francisca

Centro de trabajo: Laboratorio de Análisis Clínicos Hospital Reina Sofía. Córdoba. Laboratorio Microbiología Hospital Regional Carlos Haya. Málaga

Correo electrónico del primer firmante: angie2diaz@gmail.com:

#### Introducción:

El gen K-RAS desempeña un papel clave en la vía de señalización intracelular del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). Este receptor es una glicoproteína con actividad tirosin-kinasa que regula la diferenciación y proliferación celular. Las terapias anti-EGFR bloquean la activación de este receptor, interrumpiendo la actividad tirosin-kinasa, por lo tanto, los pacientes con cáncer de colon con el gen K-RAS no mutado (wild-type), suelen beneficiarse de estas terapias al inhibirse la señalización, aumentando la tasa de respuesta y prolongando la supervivencia sin progresión del tumor. Por el contrario, los tumores que presentan mutaciones en el gen K-RAS, no se beneficiarán de estos tratamientos.

#### Objetivo:

Identificar a los pacientes con cáncer de colon que pueden beneficiarse del tratamiento con anti-EGFR mediante el estudio de las mutaciones del gen K-RAS.

#### Material y método:

En el estudio participan 308 pacientes diagnosticados de cáncer de colon, de todos ellos se reciben una muestra de tejido tumoral parafinado remitida desde Anatomía Patológica. Los cortes se desparafinan con XILENO-ETANOL seguido de extracción de ADN y realización de PCR a tiempo real con sondas Scorpions (Therascreen) en un termociclador 7500 de Applied Biosystems®, mediante este método se detectan 7 mutaciones del gen K-RAS en los codones 12 y 13 (12 ASP, 12 ARG, 12 CYS, 12 SER, 12 VAL Y 13 ASP).

#### RESULTADOS:

De los 308 pacientes estudiados el 35% son mujeres (108 casos) y el 65% varones (198 casos) y el 1% no está informado (2 casos) debido a la presencia de escasas células tumorales. La edad media fue de 66.99 años (en mujeres: 65.77 años y en varones: 68.62 años). Los resultados del estudio de las mutaciones del oncogen K-RAS detectadas fueron las siguientes: wild-type (fenotipo salvaje): 57.14% (176 casos) de las cuales el 68.18% se detectaron en varones (120 casos) y el 31.81% en mujeres (56 casos); encontramos 130 mutaciones lo que representa el 42.86% (130 casos) de las cuales el 60% son varones (78 casos) y el 40% mujeres (52 casos). De entre los mutados 14 casos presentan doble mutación lo que representa el 10.76% de los que 4 casos son mujeres (28.57%) y 10 casos corresponden a varones (71.42%). La frecuencia de las distintas mutaciones estudiadas fueron: 12 ASP: 36.15% (47 casos), 12 VAL: 25.38% (33 casos), 13 ASP: 21.53% (28 casos), 12 ALA: 13.07% (17 casos), 12 SER: 7.69% (10 casos) 12 CYS: 3.84% (5 casos) y 12 ARG: 2.30% (3 casos).

#### CONCLUSIONES:

Predomina tanto el genotipo wild-type así como el oncogen mutado en el sexo masculino, siendo la mutación 12 ASP la más frecuentemente detectada seguida de la 12 VAL y 13 ASP. Más de la mitad de los casos estudiados corresponden al genotipo wild-type por lo que estos pacientes tienen gran probabilidad de beneficiarse del tratamiento con anti-EGFR.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 044

### PREVALENCIA DE MUTANTES PRE-CORE EN HEPATITIS CRÓNICA POR VIRUS DE LA HEPATITIS B EN LA REGIÓN SANITARIA DEL CAMP DE TARRAGONA

Trabajo de: Biología Molecular.

Autor/a/s: Fuentes Ramos Carmen, Guerrero Hormiga Vanessa, Dorado Cabello David, Cañellas Nieto Cristina, Sancho Vilellas M Jesus

Centro de trabajo: Laboratori Clinic ICS Camp de Tarragona. Hospital Universitari Joan XXII

Provincia: Tarragona

Correo electrónico del primer firmante: carmenfuentesramos@hotmail.com

#### Introducción:

En la actualidad se han detectado dos tipos de mutaciones en el virus de la hepatitis B (VHB), unas naturales y otras secundarias a los tratamientos antivirales. De todas las mutaciones naturales, la más importante es la denominada G1896A, que afecta a la región precore/core y determina la síntesis de la proteína core sin la fracción pre-core. Desde el punto de vista diagnóstico, la presencia de esta mutación implica la ausencia de secreción del Ag Hbe, y está relacionada con los genotipos B, C, y D del virus.

#### Objetivo:

Determinar la prevalencia de individuos con hepatitis B crónica con mutación pre-core en la población del área de influencia del Laboratorio Clínico ICS Camp de Tarragona.

#### Material y métodos:

Estudio transversal realizado mediante el análisis de los datos analíticos serológicos y las cargas virales de 554 individuos con Ag HBs (Antígeno Australia) positivo durante el período comprendido entre el 1 de enero de 2009 al 31 de mayo de 2010.

El aparato empleado para obtener los resultados de la serología es ADVIA Centaur®immuno assay system (Siemens) y los resultados obtenidos de las cargas virales es COBAS Ampliprep y COBAS Taqman (Roche).

#### RESULTADOS:

De los 554 individuos con Ag HBs positivo, 3 casos (0.5%) pertenecen al grupo de individuos con hepatitis crónica con elevada replicación viral (Hbe Ag+, Anti HBe-, DNA VHB+ y ALT/AST elevadas). De los 551 casos restantes, es decir, Anti HBe- y Anti Hbe+, 30 (5.4%) pertenecen al grupo de portadores asintomáticos con replicación (DNA VHB+, ALT/

AST normales) y finalmente, 14 (2.5%) se incluyen en el grupo de mutantes pre-core (DNA VHB+, ALT/AST elevadas).

#### CONCLUSIONES:

El porcentaje del 2.5 % perteneciente al grupo de individuos con hepatitis B crónica con mutación pre-core, no menospreciable con respecto al 5.4% y 8.2 % que representan los portadores asintomáticos, recomienda la inclusión en los protocolos clínicos de la determinación del genotipo del virus de la hepatitis B para optimizar la terapia antiviral.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 049

#### TRANSLOCACIONES DICÉNTRICAS EN LEUCEMIA AGUDA LINFOBLÁSTICA

*Trabajo de:* Genética.

*Autor/a/s:* José A. Barcia Barrera, M<sup>a</sup> Angeles Corzo Lopez, Matilde Romero Zarco, Rosario M<sup>a</sup> Morales, 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:

Los reordenamientos cromosómicos son hallazgos recurrentes en leucemias dando lugar a una reestructuración anómala del genoma. Un tipo de translocaciones son las dicéntricas (dic), donde se origina un cromosoma con dos centrómeros, con la consiguiente pérdida de material de ambos cromosomas implicados. La dic(9;20), se describe en el 0.5% de los pacientes adultos con leucemia aguda linfoblástica (LAL) LAL-B, dando lugar a la pérdida de material 9p y 20q, desconociéndose sus consecuencias moleculares. La dic(6;18) no se ha publicado previamente; como consecuencia de ésta, hay pérdida de 6q, ampliamente descrita en la LAL-T, y 18p

PACIENTES Y MÉTODOS

#### Caso 1.

Varón de 54 años con diagnóstico de LAL-B común (BII EGIL). El análisis citogenético en cultivo de 24 hrs. de células de médula ósea, no estimuladas, reveló la presencia de dos líneas celulares: 45,XY,-20(14)/46,XY,-20,+mar[8]. Dado que la monosomía 20 rara vez refleja la constitución cromosómica de la célula leucémica y que puede tratarse de una translocación dicéntrica, realizamos análisis mediante hibridación in situ fluorescente con sondas de ADN específicas. Las diferentes sondas utilizadas fueron: CEP(9), CEP(20), LSI 9p21(CDKN2A), LSI 20q13 (D20S108), 20PTL18 (D20S1157) y 20QTEL14. Como resultado del análisis se identificó un cromosoma dicéntrico en todas las metafases analizadas, con pérdida parcial de 9p y de 20q: 45,XY,dic(9;20)(p11-13;q11)[14]/46, idem, +mar.

El paciente siguió tratamiento según protocolo Pethema LAL-AR 2003, se obtuvo remisión completa con enfermedad mínima residual negativa el día +14 de la inducción. A los 90 días permanece en la misma situación recibiendo tratamiento de consolidación.

#### Caso 2.

Varón de 18 años con diagnóstico de LAL-T preT(TII EGIL). El análisis citogenético en cultivo de 24 hrs. de células de médula ósea, no estimuladas, reveló la presencia de dos líneas celulares: 46,XY,del(6)(q22)[14]/45,XY,dic(6;18)(q16.1;p11.32)[6]. El análisis mediante hibridación in situ fluorescente con sondas de ADN específicas: wcp(6), CEP(18) y 6q23 (MYB), confirmó el reordenamiento cromosómico detectado.

El paciente siguió tratamiento según protocolo Pethema LAL-AR 2003 con persistencia de 12% de blastos el día +14 de la inducción. El tratamiento se intensificó con mitoxantrona/ARA-C, obteniéndose remisión completa con enfermedad mínima residual negativa tras inducción. A los 77 días permanece en la misma situación recibiendo tratamiento de consolidación.

#### COMENTARIOS

La dic(9;20)(p11-13;q11) es la más descrita dentro de la poca frecuencia de las translocaciones dicéntricas en LAL-B; el diagnóstico es por hibridación in situ fluorescente (FISH), aunque se sospecha ante la existencia de monosomía 20 en citogenética; su pronóstico en adultos no está bien establecido.

La dic(6;18)(q16.1;p11.32) no se ha descrito con anterioridad; el diagnóstico es de forma directa en citogenética, aunque se confirma por FISH; en el caso descrito, hubo necesidad de intensificar el tratamiento.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 057

#### MEDICIÓN DE CÉLULAS T REGULADORAS Y PRESENTACIÓN DE LOS FOXP3 EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE

*Trabajo de:* Biología Molecular.

*Autor/a/s:* Liliana Almeida, Artur Paiva, João Figueiredo, Nádia Osório, Armando Caseiro, Fernando Mendes, António Gabriel, Ana Valado

*Centro de trabajo:* Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Coimbra

*Provincia:* Oliveira de Frades

*Correo electrónico del primer firmante:* liliana\_pt2@hotmail.com

#### Introducción:

La artritis reumatoide es una enfermedad sistémica autoinmune caracterizada por la inflamación crónica de las articulaciones. Varios estudios muestran que las células T reguladoras CD4+/CD25 +/Foxp3+/CD127-/low, puede suprimir la activación del sistema inmune y es esencial en el control de este tipo de enfermedades crónicas de etiología autoinmune.

#### Objetivo:

Quantificar las células T reguladoras de la sangre periférica y evaluar la expresión del gen Foxp3 del factor de transcripción en las células en los pacientes con actividad alta y baja de la artritis reumatoide y sujetos de control.

#### Métodos:

La muestra estuvo constituida por 33 pacientes con artritis reumatoide, 14 en fase de actividad alta y 19 están de baja actividad de la enfermedad. El grupo control consistió de 13 individuos.

Quantificación de las células T reguladoras se realizó por citometría de flujo y para la evaluación de la expresión génica de Foxp3 recurrido a la PCR en tiempo real.

El análisis estadístico se realizó mediante el software SPSS 15.0 y el análisis de las variables se utilizó la prueba paramétrica t-student para muestras pareadas.

#### RESULTADOS:

Los datos mostraron que en pacientes con artritis reumatoide, hay una tendencia a disminuir la frecuencia de las células T reguladoras en comparación con los controles, aunque con un aumento de la producción del número de copias de ARNm Foxp3 por las mismas células.

#### Conclusión:

Nuestro estudio sugiere que las células T reguladoras, teniendo en cuenta la variación numérica y funcional en los grupos estudiados, tienen un impacto en la fisiopatología y la severidad de la artritis reumatoide.

Palabras clave: Artritis reumatoide, las células T reguladoras, CD4, CD25, Foxp3, CD127,

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 66

#### ESTUDIO DEL GEN ALFA 1 ANTITRIPSINA MEDIANTE PCR EN TIEMPO REAL

*Trabajo de:* Genética.

*Autor/a/s:* Pilar Carrero Baz, Mercedes Fuentes Colella, Virginia Solaesa García, María Isidoro García

*Centro de trabajo:* Complejo Asistencial Universitario de Salamanca

Lab Genética Molecular y Farmacogenética

*Provincia:* Salamanca

*Correo electrónico del primer firmante:* pcarrerob@yahoo.es

#### Introducción:

La alfa1-antitripsina (AAT) es una proteína producida en el hígado y liberada después a la circulación sanguínea. También llamada inhibidor de la proteasa Alfa1 por su localización en la banda de las alfa-globulinas del proteinograma y su función inhibidora de proteasas (principalmente la elastasa).

El gen que codifica la AAT conocido como gen Pi, se encuentra en el brazo largo del cromosoma 14 (14q32.1). Si existe una alteración o una mutación en una o en ambas copias del gen Pi, es posible que el individuo produzca menos cantidad de AAT o una AAT no funcional. Si hay una disminución de aproximadamente un 30% de los niveles normales, el paciente afecto presentará un trastorno conocido como déficit de AAT. Estos individuos presentan un riesgo considerable de desarrollar enfisema y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) en la edad adulta. A pesar de que existen más de 70 alelos diferentes o variaciones en la secuencia del gen Pi, sólo algunos se consideran más relevantes por su frecuencia. Aproximadamente el 90% de la población española tiene dos copias del alelo normal Pi\*M (MM). Entre las formas anómalas, las más frecuentes son el alelo Pi\*S (Glu264Val), y el alelo Pi\*Z (Glu342Lys).

#### Objetivo:

Considerando la elevada incidencia del enfisema y EPOC en la patología neumológica nos planteamos la puesta a punto metodológica en la Sección de Genética Molecular y Farmacogenética del Hospital Universitario de Salamanca. Dentro del proceso de puesta a punto consideramos esencial la validación metodológica. El objetivo de este trabajo es contribuir al proceso de validación con la confirmación de los patrones de genotipado de PCR en tiempo real mediante un método de referencia.

#### MATERIAL Y METODOS:

Para la puesta a punto y validación se emplearon inicialmente 9 muestras de sangre total, la extracción automatizada de ADN se realizó con el sistema MagnaPure® Compact. (ROCHE) con 1000ul de sangre total, eluyendo en 200ul. Todas las muestras se analizaron mediante PCR en tiempo real capilar con sondas FRET, en un LightCycler® (LC) versión 2.0 de 6 canales, seleccionando los primers y sondas adecuados para las discriminaciones alélicas. Los patrones obtenidos de genotipado fueron confirmados mediante secuenciación en un secuenciador automático tras amplificación mediante PCR convencional en un Gene Amp PCR System 9700 de Applied Biosystems, previa purificación en columna.

#### RESULTADOS:

Se obtuvieron cuatro patrones diferentes (MM, MZ, MS, SS) no detectándose ningún patrón ZZ. La secuenciación directa permitió confirmar los patrones homocigoto normal

(MM), heterocigoto para S (MS), y homocigoto para S (SS) y heterocigoto para Z (MZ) este último utilizado control de referencia de Meelting para definir las Tm características de cada ensayo de PCR en tiempo real.

#### CONCLUSIONES:

En el proceso de puesta a punto de genotipado en un laboratorio molecular se debe proceder a la validación metodológica que tenga en cuenta tanto la sensibilidad, especificidad, control interno, estudio de medidas repetidas y métodos de confirmación. El empleo de una técnica de referencia es esencial en el proceso de validación. En este caso hemos propuesto la secuenciación directa como método de referencia para la confirmación de resultado dentro del proceso de validación metodológica para la definición de Tm.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 086

### IDENTIFICACIÓN DE GENES DIFERENCIALMENTE EXPRESADOS EN CÉLULAS MADRE MESENIQUIMALES AISLADAS DE MÉDULA ÓSEA DE DONANTES SANOS Y PACIENTES CON NEUROBLASTOMA

Trabajo de: Genética

Autor/a/s: Rodríguez-Milla Miguel Angel , Mirones Isabel , Mariñas-Pardo Luis , Cubillo Isabel , Ramírez-Orellana Manuel , García-Castro Javier.

Centro de trabajo: Instituto de Salud Carlos III

Provincia: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: rmilla@isciii.es

#### Introducción:

El neuroblastoma (NB) es el tumor sólido extracraneal más común en la infancia. Aunque se sabe que las células madre mesenquimales (65 mesenchymal stem cells , MSCs) interaccionan con las células cancerígenas formando un estroma tumoral, se desconoce la relación entre las MSCs y las células tumorales de neuroblastoma en sus metástasis en la médula ósea (MO).

#### Objetivo:s

El principal objetivo fue la obtención de evidencia genética de las alteraciones transcripcionales ejercidas en las MSCs por su interacción con células de neuroblastoma, en el nicho tumoral de sus metástasis en MO. Así pues se realizó un estudio con microarrays de los patrones globales de expresión de MSCs aisladas de médula ósea de pacientes con NB, comparándolas con MSC de MO de donantes sanos.

#### Material y métodos:

Las MSCs se aislaron de médula ósea de cuatro pacientes con NB y cuatro donantes sanos y el ARN total se purificó usando protocolos estándar. Los patrones globales de expresión se estudiaron mediante microarrays de Agilent 4x44K. La validación de la expresión se realizó en diecisiete muestras adicionales por RT-PCR cuantitativa en tiempo real usando el LightCycler de Roche.

#### RESULTADOS:

Se identificaron 148 genes expresados de forma diferencial mostrando un cambio en un factor de 2,5 (aumentando o disminuyendo su expresión) entre los dos grupos de muestras. Un gran número de genes con mayor expresión en MSCs procedentes de pacientes con NB codificaban proteínas relacionadas con la matriz extracelular y la adhesión celular (ANXA10, ITGA2, COL4A5, PSCDBP, BCAN, CNTNAP3). Por el contrario, en dichas muestras la expresión de varios genes que codifican proteínas inducidas por interferón se encontraba reducida (IFI27, IFITM1, ISG20, IFIT2, IFIT3). La reducción de la expresión de IFI27 en MSCs de pacientes con NB fue validada por RT-PCR cuantitativa en tiempo real en muestras adicionales.

#### CONCLUSIONES:

Nuestros datos preliminares sugieren que las MSCs de pacientes con NB pueden ejercer cambios en su ambiente (matriz extracelular y propiedades de la adhesión celular) e inducir un nicho inmunodeprimido, común en estromas tumorales, características ambas que favorecerían el crecimiento y mantenimiento de las metástasis de NB.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 093

### ESTUDIO DE ANEUPLOÍDIAS FETALES QF-PCR

Trabajo de: Biología Molecular.

Autor/a/s: ROSET SERRA ALBA, LÓPEZ SOUTO VERÓNICA, BADENAS ORQUIN CELIA, MILA RECASENS MONTSERRAT

Centro de trabajo: HOSPITAL CLÍNICO DE BARCELONA - Bioquímica y Genética Molecular Servicio:

Provincia: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: alba6882@hotmail.com

#### Introducción:

la PCR cuantitativa fluorescente (QF-PCR) está siendo utilizada por muchos laboratorios de diagnóstico prenatal para la detección de las aneuploidías fetales más comunes. Es una

técnica rápida, barata y que es fácilmente automatizable, lo que permite el estudio de un gran número de muestras en un solo experimento.

#### Objetivo:

evaluar la técnica de QF-PCR como herramienta para el diagnóstico prenatal. Correlacionar los resultados obtenidos con los motivos de consulta en las muestras prenatales referidas al Servicio de Bioquímica y Genética Molecular del Hospital Clínico de Barcelona entre los años 2004 a 2008.

METODOLOGIA: Se han evaluado 7679 diagnósticos prenatales: 6436 líquidos amnióticos (LA) y 1243 vellosidades coriales (VC). Se han amplificado mediante PCR utilizando oligonucleótidos marcados fluorescentemente de 20 marcadores microsatélites localizados en los cromosomas 13, 18, 21, X e Y. Las reacciones se han analizado en un secuenciador automático ABI3100.

#### RESULTADOS:

se ha podido obtener un resultado en 7611 de las muestras recibidas (99.1%). Se ha obtenido un resultado anómalo en 185 muestras de LA (2.87%) y 151 VC (12.1%). Se ha detectado un resultado anómalo en el 21% de los LA y el 38% de las BC que consultaban por pliegue nuchal aumentado y el 42% de LA y 36% de VC por anomalías ecográficas.

#### Conclusión:

la técnica de QF-PCR es rápida y eficaz, ya que se obtiene resultado en más del 99% de las muestras concordantes con el cariotipo. El pliegue nuchal aumentado y las anomalías ecográficas son los marcadores con mayor porcentaje de anomalías cromosómicas.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 094

### NUOVA TÉCNICA PARA DETECTAR PÉRDIDAS Y GANANCIAS DEL DNA

Trabajo de: Biología Molecular.

Autor/a/s: LÓPEZ SOUTO VERÓNICA, ROSET SERRA ALBA, MADRIGAL BAJO IRENE, ORIOLA AMBROS JOSEP, MILA RECASENS MONTSERRAT

Centro de trabajo: HOSPITAL CLÍNICO DE BARCELONA - Bioquímica y Genética Molecular

Correo electrónico del primer firmante: veronica\_lopez\_souto@hotmail.com

#### Introducción:

Diversas enfermedades genéticas son debidas a pérdidas y ganancias de material genético. Para la detección de estas alteraciones es necesario disponer de una técnica que permita una cuantificación del material. La puesta a punto de la técnica Multiplex Ligation Probe Amplification (MLPA) permite, mediante la utilización de sondas específicas, la detección de este tipo de alteraciones.

#### Objetivo:

Evaluar las diferentes aplicaciones de la técnica de la MLPA para la detección de variaciones en número de copia.

#### METODOLOGIA:

Se ha evaluado el estudio mediante MLPA en 694 pacientes con diversas patologías referidos al Servicio de Bioquímica y Genética Molecular del Hospital Clínico de Barcelona, 7 con sospecha de Distrofia muscular de Duchenne (DMD), 44 Charcot Marie Tooth (CMT), 80 Retraso mental ligado a cromosoma X (XLMR), 50 Diabetes tipo MODY, 201 Von-Hippel-Lindau (VHL), 177 déficit de 21-Hidroxilasa y 135 MEN1-AIP. En cada caso se ha aplicado el MLPA correspondiente a la región a estudiar (kits comerciales MCP-Holland). Toda alteración detectada por MLPA ha sido confirmada mediante otro kit, PCR cuantitativa, Fluorescent in situ hybridation (FISH) o secuenciación.

#### RESULTADOS:

Valoración de la técnica: en el 98% de los casos se ha obtenido resultado y el 2% restante corresponde a muestras con un DNA con pureza y/o concentración baja.

En el 95% de los casos, que presentaban alguna alteración, ésta ha sido confirmada por otras técnicas. En el 5% restante de estos casos se han detectado polimorfismos y /o mutaciones puntuales que alteran la hibridación.

#### CONCLUSIONES:

La MLPA es una técnica rápida, eficaz y asequible para la detección de variaciones en número de copia que se ha convertido en una valiosa herramienta.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 097

### PREVALENCIA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN LAS MUJERES DE LA REGIÓN SANITARIA DEL CAMP DE TARRAGONA

Trabajo de: Biología Molecular.

Autor/a/s: Inmaculada Criado Najar, Yolanda Luceño Castilla, David Dorado Cabello, Cristina Cañellas Nieto, María Jesús Sancho Vilellas

Centro de trabajo: Laboratorio Clínico ICS Camp de Tarragona

Provincia: Tarragona

Correo electrónico del primer firmante: inmacrina@gmail.com



## Introducción:

A nivel mundial, el cáncer cervical afecta aproximadamente a 500.000 mujeres cada año y, en España después del cáncer de mama, es el segundo tipo de cáncer más frecuente en las mujeres de la franja de edad entre 15 y 44 años. A finales del año 2006, el Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya inició un protocolo cuyo objetivo era mejorar la calidad, cobertura y efectividad de las estrategias de prevención del cáncer de cuello uterino. Éste incluía la determinación del ADN del VPH en una serie de supuestos: cribado inadecuado, ASCUS, post-tratamiento quirúrgico de lesiones y seguimiento de un VPH previo positivo.

## Objetivo:

Evaluar la incidencia de VPH en la población femenina durante los años 2007 a 2010, así como determinar los tipos más frecuentes de VPH que se han encontrado en las muestras positivas durante el año pasado.

## MÉTODOS Y RESULTADOS:

La muestra para el estudio de citología cervical se recogió en la consulta de ginecología mediante técnica estandarizada.

La detección del genoma viral se realizó por el método de captura de híbridos recomendado por el Departament de Salut, HC2 (Digene®, Qiagen®, USA).

El tipado de VPH se realizó por el método Linier Array HPV (Roche®) mediante hibridación en tira post-amplificación.

De un total de 6218 peticiones, en 2007 se realizaron 210 cribados, con un total del 12.38% de positivos, en 2008 se realizaron 1499 cribados con un total del 16.61% de positivos, en 2009 se realizaron 1931 cribados con un total del 19.32% de positivos y en 2010 se realizaron 2578 cribados con un total de 17.26% de positivos.

En cuanto a los tipos encontrados se observa que el tipo de alto riesgo más prevalente es el tipo 16 con una frecuencia del 18.28%, seguido de los tipos 51 (6.25%), 31 (5.47%), 56 (5.16%), 58, 59 y 73 (3.13% respectivamente), del tipo 39 (2.81%), 35 (2.66%), 18 y 45 (2.19%, respectivamente), tipo 33(1.56%) y del tipo 82 con un 0.16%. Entre los de bajo riesgo destaca el tipo 6 (3.75%).

\*Se adjunta tabla y gráfica de porcentajes de cribajes positivos por años y frecuencia de los tipos.

## CONCLUSIÓN

Se observa que el porcentaje de positivos del VPH mediante la técnica de cribado se mantiene estable desde el principio del programa, siendo el porcentaje global del 17.58%. También se observa que el tipo más frecuente es el tipo 16, considerado como el PVH de más alto riesgo de desarrollar un cáncer de cérvix y que está incluido en los dos tipos de vacunas que se comercializan actualmente.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 108

## DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES VIRALES EMERGENTES EN PACIENTES CON ENFERMEDAD ONCOHEMATOLÓGICAS.

*Trabajo de:* Biología Molecular.

*Autor/a/s:* GONZALEZ MARTIN YAIZA DEL MAR, NODA MESA MARTA ELENA, LORENZO TABARES CARMEN, GONZALEZ DIAZ YURENA, CASTRO HERNANDEZ BEATRIZ, TENORIO ABREU ALBERTO, LECUONA FERNANDEZ MARIA.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO DE CANARIAS

*Provincia:* SANTA CRUZ DE TENERIFE

*Correo electrónico del primer firmante:* yaiza\_g@hotmail.com

## Introducción:

Las infecciones virales en pacientes oncológicos pueden ser producidas por virus Herpes simples (VHS), Herpes zoster (VVZ) y Citomegalovirus (CMV) principalmente. Es frecuente la estomatitis herpética en pacientes que reciben quimioterapia, la neumonía por VVZ y las infecciones por CMV que suelen ser reactivaciones. Las técnicas de biología molecular son una herramienta diagnóstica rápida importante para el seguimiento de las infecciones en estos pacientes.

## Objetivos:

Comentar el diagnóstico microbiológico realizado durante un año por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real de infecciones producidas por virus de la familia Herpes en pacientes con alteraciones hematológicas de un Servicio de Hematología.

## MATERIAL Y MÉTODO

Se analizaron 52 muestras entre biopsias, exudados, lavado broncoalveolar (LBA), líquido cefalorraquídeo (LCR) o plasma (según la clínica) de 47 pacientes del Servicio de Hematología con alteraciones clínicas compatibles con leucemia, linfoma o aplasias, durante septiembre 2009 septiembre 2010 en la unidad de virología del Hospital Universitario de Canarias. La extracción del material genómico de partida se hizo mediante el extractor automático EasyMag® (BioMerieux) basado en el método de sílice magnética y la determinación de VHS, VVZ y CMV se realizó mediante una PCR a tiempo real (Stratagene MX3005P).

## RESULTADOS:

En el periodo septiembre 2009 septiembre 2010 se analizaron 52 muestras, correspondientes a 47 pacientes con alteraciones oncohematológicas, por PCR a tiempo real para la detección de CMV, VHS y VVZ según la sospecha clínica. Se realizaron 100

PCR a tiempo real, 50 (50%) PCR de CMV, 43 (43%) de VHS y 7 (7%) de VVZ. El CMV fue positivo en 6 pacientes (12,77%), el VHS en 6 pacientes (12,77 %) y no hubo ningún caso positivo de VVZ. De los pacientes positivos para CMV 2 (33,33%) tenían diagnóstico de linfoma no Hodgkin, 2 (33,33%) mieloma múltiple, 1 (16,66%) linfoma y 1 (16,66%) enfermedad granulomatosa crónica. De los pacientes positivos para VHS 4 (66,66%) tenían diagnóstico de leucemia mieloide aguda, 1 (16,66%) leucemia linfocítica aguda y 1 (16,66%) mieloma múltiple.

## DISCUSIÓN

En los últimos años, los avances terapéuticos han permitido que sea mayor el número de pacientes que sobreviven a enfermedades hematológicas con un sistema inmunológico deteriorado que compromete su capacidad de combatir las infecciones. Con el desarrollo de las técnicas diagnósticas se ha observado una emergencia de infecciones por virus latentes en pacientes oncohematológicos. Aunque no se detectaron infecciones por VVZ y el porcentaje de pacientes con infección por CMV es de 12,77% al igual que el VHS, las características intrínsecas de estos pacientes hacen que el cuadro clínico que producen estos virus pueda ser en ocasiones graves necesitando por tanto ayuda de un diagnóstico rápido como es la técnica de PCR a tiempo real.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 117

## UTILIDAD DEL DNA SÉRICO PARA LA OBTENCIÓN DE MATERIALES DE REFERENCIA PARA PCR EN TIEMPO REAL

*Trabajo de:* Genética.

*Autor/a/s:* Pilar Carrero Baz, Mercedes Fuentes Colella, Piedad Matas LLorente, María Isidoro García

*Centro de trabajo:* Complejo Asistencial Universitario de Salamanca

Bioquímica Lab Genética Molecular y Farmacogenética

*Correo electrónico del primer firmante:* pcarrerob@yahoo.es

## Introducción:

Uno de los aspectos fundamentales en el desarrollo de las pruebas de genética molecular es el abordaje del control de calidad interno. Para las técnicas de genotipado mediante PCR en tiempo real, al igual que para los métodos de PCR convencional, además de los apropiados controles negativos se deben utilizar materiales de referencia adecuados. La obtención de dichos materiales es compleja debido a la dificultad de la trazabilidad. Tradicionalmente la obtención de DNA en el laboratorio se realiza a partir de sangre total. En nuestro laboratorio hemos planteado el desarrollo de la obtención de materiales de referencia a partir de muestras de suero que proporcionan como ventaja la disponibilidad en aquellos casos en los que el genotipo se asocie a un fenotipo cuantificable en suero.

## Objetivo:

Obtención de materiales de referencia de DNA sérico para PCR en tiempo real para genotipado de Alfa-1-antitripsina.

## MATERIAL Y METODOS:

Para la puesta a punto y validación se identificaron inicialmente 5 muestras de suero con niveles anormales de proteína alfa 1 antitripsina determinados por nefelometría. La extracción automatizada de ADN se realizó con el sistema MagnaPure® Compact. (ROCHE). Para obtener la concentración de DNA adecuada para la realización del ensayo se utilizaron 500 ul de suero, eluyendo en diferentes volúmenes finales, dos de las muestras en 50ul, dos en 100ul y una en 200ul. Todas las muestras se analizaron mediante PCR en tiempo real capilar con sondas FRET, en un LightCycler® (LC) versión 2.0 de 6 canales, seleccionando los primers y sondas adecuados para las discriminaciones alélicas. Se realizaron diferentes ensayos modificando la cantidad de DNA utilizando 2ul, 4ul y 6ul respectivamente. Los patrones obtenidos de genotipado fueron confirmados mediante secuenciación en un secuenciador automático tras amplificación mediante PCR convencional en un Gene Amp PCR System 9700 de Applied Biosystems, previa purificación en columna.

## RESULTADOS:

Se observó que el rango de las concentraciones obtenidas de DNA para las eluciones finales de 50ul, 100ul, y 200ul variaron entre 29ng/ul y 74ng/ul no siendo el volumen de elución el factor limitante en el procedimiento. Sin embargo la cantidad de DNA empleada en el procedimiento si fue limitante de modo que el genotipado con muestras de ADN inferiores a 148 ng no presentó suficiente eficiencia.

Se obtuvieron dos patrones diferentes (4 muestras MM y una MS). Dichos patrones fueron analizados por duplicado mediante secuenciación automática y posteriormente alicuotados como material de referencia y conservados siguiendo las recomendaciones de la Norma ISO 15189.

## CONCLUSIONES:

La disponibilidad de adecuados materiales de referencia para las técnicas de genotipado es limitada debido a la escasez de programas para la provisión de dicho material. Dada la dificultad de obtención de dichos materiales, en el caso de que no existan ensayos de intercomparación acreditados hemos propuesto la caracterización por duplicado mediante secuenciación automática, empleando DNA sérico que facilita la obtención de patrones de genotipado para aquellos casos en los que el fenotipo sea cuantificable en suero.

**CARDIOPATIA CONGENITA EN UNA PACIENTE CON DIAGNOSTICO CITIGENETICO DE ISICROMOSOMA X**

*Trabajo de:* Genética.

*Autor/a/s:* ALICIA INMACULADA PUADO LOPEZ, BELEN YEBRA ELIPE, PEDRO PEREZ GOMEZ

*Centro de trabajo:* HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO GREGORIO MARAÑON

*Provincia:* MADRID

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

**RESUMEN:**

El síndrome de Turner es un síndrome que engloba alteraciones distintas en el cariotipo siendo la más típica 45,X (40-60% de los casos), otras alteraciones incluyen: 46,X,i(Xq); 46,X,del(Xp); 46,X,del(Xq); 46,X,r(X); 46,X,i(Xp) y translocaciones del cromosoma X a un autosoma e inversiones. Los mosaicismos son también frecuentes.

*Caso clínico:*

Presentamos el caso clínico de una paciente con diagnóstico de cardiopatía congénita al nacimiento (estenosis aórtica con válvula displásica) y estudio citogenético compatible con Síndrome de Turner (isocromosoma X).

**Material y métodos:**

En el laboratorio de genética existe un protocolo de estudio que se aplica a pacientes pediátricos con diagnóstico de cardiopatía congénita. En primer lugar se realiza estudio de cariotipo con bandas G para descartar anomalías cromosómicas numéricas o estructurales identificables a la resolución que el cariotipo permite. En un segundo paso se estudian regiones concretas del genoma relacionadas con la aparición de cardiopatías congénitas mediante procedimiento de FISH (Hibridación in situ con Fluorescencia).

En el caso que presentamos el estudio citogenético de bandas G a una resolución aproximada de 450-500 bandas mostró la presencia de un isocromosoma X(p). Este hallazgo fue confirmado mediante procedimiento FISH utilizando sonda painting específica para el cromosoma X (XCP MetaSystems Chromosome Painting Probe).

Previamente habían sido descartados otros síndromes de microdelección como el CATCH 22, sonda FISH: DiGeorge Region Probe-LSI TUPLE1 (HIRA), relacionados con la aparición de cardiopatía congénita.

**CONCLUSIONES:**

Las cardiopatías congénitas son causa importante de morbimortalidad en pacientes pediátricos. Es necesario que las unidades de genética que presten asistencia servicios pediátricos tengan establecido un protocolo de estudio para estos casos que incluya al menos citogenética convencional y estudio de los principales síndromes de microdelección mediante procedimiento de FISH.

Un diagnóstico genético precoz y preciso en pacientes pediátricos con cardiopatía congénita puede ser decisivo a la hora de optimizar el manejo clínico de estos pacientes.

**DIAGNOSTICO POR CITIGENETICA MOLECULAR DE UN CASO DE LEUCEMIA MIELOIDE CRONICA Ph+ ENMASCARADA POR REORDENAMIENTOS COMPLEJOS DE CROMOSOMAS**

*Trabajo de:* Genética.

*Autor/a/s:* Miguel Angel Grillo, Juliane Menezes, Maria del Carmen Carralero, Maria del Carmen Martin, Almudena Gil, Luis Espinosa-Hevia, Miriam Hernando-Rodriguez, Juan Cruz Cigudosa

*Centro de trabajo:* CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES ONCOLOGICAS (CNIO)

*Provincia:* MADRID

*Correo electrónico del primer firmante:* magrillo@cnio.es

**Introducción:**

El análisis citogenético de las células tumorales a revelado la presencia de alteraciones cromosómicas clonales en más de 30.000 neoplasias humanas. Hoy sabemos que la presencia de determinadas alteraciones cromosómicas aportan información importante con valor diagnóstico y pronóstico en neoplasias hematológicas y tumores sólidos. El conocimiento de la alteración cromosómica asociada a un determinado diagnóstico permite hacer un seguimiento de la evolución de la enfermedad, valorar la respuesta al tratamiento y detectar y cuantificar la enfermedad mínima residual.

El cromosoma Philadelphia (Ph) es característico de la Leucemia Mielóide Crónica (LMC) y es producto de la translocación t(9;22)(q34;p11) que resulta en la fusión de los genes ABL y BCR. Está presente en más de 95% de los pacientes con LMC. Esta fusión genera un gen híbrido que produce una proteína con elevada actividad tirosin quinasa que tiene un papel central en la patogénesis de la enfermedad. Además, los pacientes LMC Ph+ poseen un tratamiento específico con mesilato de imatinib, que es un inhibidor específico de la fosforilación tirosin quinasa producida por el gen híbrido BCR-ABL.

**Objetivo:**

Basados en la importancia de la investigación genético-molecular del paciente con LMC, nuestro objetivo fue caracterizar genéticamente una muestra de médula ósea procedente de un paciente con sospecha de LMC con un cariotipo complejo.

**Material y métodos:**

Aspirado de médula ósea. Cultivo celular de 24 horas. Cariotipo de bandas G. FISH con sondas específicas para t(9;22)(q34;p11), Sonda para gen p16 (9p21), sonda para la translocación de los genes PML/RARA, t(15;17)(q24;q21)

**RESULTADOS:**

1. El cariotipo mediante bandas G permitió identificar en el cultivo celular de 24 horas dos poblaciones celulares. Una compuesta de células normales (46,XY [6]) y otra compuesta por células con 46 cromosomas con translocaciones complejas que implicaban a los cromosomas 9 y 22 (46, XY, t(9;22)(p12;q34;q11.2) [14]). En el cariotipo no se veía el cromosoma Philadelphia (cromosoma 22 más pequeño), se observaban dos cromosomas 22 del mismo tamaño y una delección del brazo p del cromosoma 9.

2. Mediante la técnica de FISH se detectaron 2 patrones alterados uno de ellos con dos señales rojas (gen ABL normal), dos señales verdes (gen BCR normal) y una señal de co-localización rojo-verde (derivado de la translocación) en el 49% de los núcleos analizados y en un 23% el patrón (1 señal roja ABL, 1 señal verde BCR y 2 señales de co-localización) En metafases, con el uso de las sondas para el gen p16 y para la translocación PML/RARA, t(15;17), hibridando esta última en las mismas metafases en las cuales se hibridó la sonda BCR/ABL observamos que es un reordenamiento complejo, que incluye la inserción del locus ABL (que normalmente se localizaría en el cromosoma 9 translocado) en el cromosoma 15, además de un reordenamiento de parte del brazo p del cromosoma 9 con el cromosoma 22, motivo por el cual en cariotipo no se apreciaba el cromosoma Philadelphia

**CONCLUSIONES:**

Solo mediante la combinación de ambas técnicas fue posible identificar la fusión BCR-ABL como resultado molecular de los reordenamientos cromosómicos. Esta implicación detectada mediante FISH orienta el diagnóstico y el tratamiento del paciente con LMC

**APLICACIÓN DE UNA NUEVA TÉCNICA DE SECUENCIACIÓN MASIVA DE GENOMAS (ULTRA DEEP SEQUENCING) PARA LA DETERMINACIÓN DEL TROPISMO VIRAL EN PACIENTES INFECTADOS POR VIH**

*Trabajo de:* Biología Molecular.

*Autor/a/s:* López Bueno Josefa, Merida del Caño María Dolores, Torres Espinola Juana,

*Centro de trabajo:* Hospital Clínico San Cecilio

*Provincia:* Granada

*Correo electrónico del primer firmante:* pepilb@ugr.es

**Introducción: y Objetivo:**

Las nuevas tecnologías para la secuenciación de ácidos nucleicos permiten la detección masiva de genomas en una misma reacción. Este hecho es de especial utilidad en virología, sobre todo en aquellos virus con una elevada variabilidad genética, ya que estos coexisten en un mismo paciente en forma de un elevado número de genomas muy relacionados entre sí, conocidos como cuasiespecies. En este trabajo hemos aplicado esta nueva tecnología para determinar la presencia de cepas que no usan el coreceptor CCR5 (X4 o DM) para la entrada viral en pacientes infectados por VIH.

**Pacientes y Métodos:**

Se han estudiado muestras de 25 pacientes con infección VIH seleccionados mediante ensayos fenotípicos de tropismo (Standard Trofile) para iniciar tratamiento con el antagonista de CCR5 Maraviroc. En todas las muestras se ha analizado la secuencia de V3 mediante técnicas convencionales de RT-PCR y posterior secuenciación bidireccional utilizando la plataforma Trugene (Siemens NAD) y, simultáneamente, se ha procedido a la secuenciación masiva (454-UDS, Roche). Brevemente esta tecnología requiere: a) marcar los amplicones con un código de barras y un oligonucleótido de amplificación, b) realizar una PCR en emulsión (em-PCR), c) generar las secuencias individuales, d) analizar todas las secuencias generadas para corregir errores de secuenciación. Para analizar las secuencias obtenidas por UDS, sólo se seleccionaron las secuencias con > 70% identidad, que fueron las que se alinearon con la secuencia de referencia para obtener el número final de secuencias por paciente. Tras validar las secuencias, el tropismo viral se estimó utilizando las herramientas bioinformáticas web PSSMnsi y PSSMX4R5.

**RESULTADOS:**

Con la utilización de 454-UDS hemos conseguido generar un total de 208723 secuencias. Tras eliminar los residuos, obtuvimos un total de 203582. Presentamos los resultados de 18 de los 25 pacientes en los que se ha completado el análisis bioinformático hasta este momento. En estos, la tecnología 454-UDS ha permitido detectar un total de 90563 secuencias. Tras la validación con >70% de identidad, hemos podido analizar un total de 54556 secuencias de los 18 pacientes. Se han analizado una mediana de 2892.5 secuencias por paciente [rango, 869-4854; RIQ: 2186-3378]. La mediana de secuencias diferentes por paciente ha sido de 202 [rango, 111-403, RIQ: 154-245]. La mediana de uso de coreceptores no-CCR5 (X4 ó DM) fue del 1.69%, rango 0.7 a 3.3% [RIQ: 1,24 -2,34].

## CONCLUSIONES:

hemos aplicado con éxito las técnicas de secuenciación masiva de genomas para la determinación del uso de coreceptores de entrada viral en pacientes infectados por VIH. La sensibilidad de esta técnica para detectar cepas no CCR5 ha superado a las técnicas fenotípicas (Standard Trofile) y a la secuenciación de poblaciones. Este hecho puede tener importantes implicaciones clínicas, a la hora de la selección de antagonistas de CCR5 en el régimen de antirretrovirales.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 132

### PREVALENCIA DE CEPAS CON TROPISMO X4 (NO R5) EN PACIENTES VIH-1 INFECTADOS CON SUBTIPOS NO-B.

*Trabajo de:* Biología Molecular.

*Autor/a/s:* Merida del Caño María Dolores, López Bueno Josefa, Costela López Carmen

*Centro de trabajo:* Hospital Clínico San Cecilio

*Provincia:* Granada

*Correo electrónico del primer firmante:* pepilb@ugr.es

## Introducción:

La determinación del tropismo viral basados en la secuenciación de la región V3 (test genotípico), se acepta por las últimas actualizaciones de las guías europeas y nacionales como una herramienta válida para guiar la utilización de un antagonista de CCR5. Existe poca información y algunas controversias sobre cómo se comportan estas herramientas en subtipos no-B de VIH-1.

## Objetivo:

Evaluar la rentabilidad en la amplificación y estimar los porcentajes de detección de cepas X4 en un panel de referencia y en aislados clínicos de subtipos no-B de VIH-1.

## Métodos:

realizamos la determinación del tropismo V3 en 22 cepas de referencia subtipo no-B puros de VIH-1 (NIH subtype panel- A1-3, B1-3, C1-4, D1-3, E1-3, F1-2, G1-3 Y H2). A continuación, analizamos muestras de 63 pacientes VIH-1 identificados como subtipo no-B en el gen pol en el período 2002-2010, de los que disponíamos de muestras de suero en nuestra seroteca. De ellos, el 46,8% corresponden a pacientes naïve a tratamiento, el 69,8% son hombres, con una mediana de edad de 42,5 [35,5-47,2] años, y la mediana de la carga viral es de 37000 [8442-155000] copias/ml. Se realiza la determinación de tropismo V3 mediante un método no comercial, amplificando la región V3 y utilizando la plataforma de Trugene (Siemens NAD) para la resolución de los secuenciados. Posteriormente se editan las secuencias y se emplean herramientas bioinformáticas y el algoritmo Chueca para su análisis.

## RESULTADOS:

todas las cepas de referencia de subtipos no-B puro amplificaron en la región V3. La distribución de subtipos en los aislados de pacientes incluyeron 29 formas circulantes recombinantes (CRFs, 46%), 22 de ellos CRF02\_AG (34,9% del total), 9 formas únicas recombinantes (URFs, 14%) y 25 subtipos no-B puros (40%). No hemos conseguido amplificar un total de 10 muestras (16%), de las cuales 2 tienen una carga viral inferior a 1000 copias, y de las restantes el 25% pertenecen a formas recombinantes. Del total de pacientes el 23% de los pacientes presentaron tropismo X4, sin que existieran diferencias significativas entre pacientes naïve y pretratados en cuanto a la proporción de virus X4, ni en las cifras de CD4. No se ha encontrado asociación estadística entre la prevalencia de cepas X4 y los aislamientos de cepas con virus recombinantes.

## CONCLUSIONES:

La rentabilidad, en términos de amplificación de la región V3 en subtipos no-B es ligeramente inferior a la previamente observada en subtipos B. No existe una mayor prevalencia de cepas X4 en los aislamientos con virus recombinantes, en especial CRF02\_AG, el subtipo no-B de mayor prevalencia en nuestro medio.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 139

### EVALUACIÓN DEL MEDIO PAD SPIN PARA LA REALIZACIÓN DE LA TÉCNICA AMPLICOR PCR PAPILOMAVIRUS

*Trabajo de:* Biología Molecular.

*Autor/a/s:* De Luchi Olmo M<sup>a</sup> Dolores, Gayoso Rodríguez Antonio J., González Navarrete Gema, Martínez Monrobbé Blanca, Vaquero Serrano Mercedes, Chávez Caballero Mónica, Serrano Martino M<sup>a</sup> Carmen, Ramírez Arcos Mercedes

*Centro de trabajo:* Hospital San Juan de Dios Aljarafé. Bormujos. SEVILLA

*Correo electrónico del primer firmante:* noa672003arrobayahoo.es

## Introducción:

Cuando empezamos a montar el screening de Papilomavirus (HPV) mediante la técnica de PCR Amplicor (Roche) en muestras de cepillado endocervical, éstas eran remitidas desde el Laboratorio de Anatomía Patológica cuando en sus citologías observaban alguna alteración. El medio utilizado por los patólogos para realizar la citología líquida era el medio Pad Spin

(Thermo). Aunque la casa comercial Roche recomendaba el uso del medio Cobas PCR, dado que en algún hospital se utilizaba el medio Pad Spin, nos planteamos la posibilidad de utilizarlo para evitar una segunda cita a la paciente con la sobrecarga de trabajo que suponía para los ginecólogos así como el coste sobreañadido.

## Objetivo:

Valorar la idoneidad del medio Pad Spin para la realización de la PCR de HPV y comparar los resultados con los obtenidos tras empezar a utilizar el medio Cobas PCR recomendado por Roche.

## Material y método:

En Marzo de 2008 introducimos el screening del HPV en muestras de cepillado endocervical mediante la técnica de PCR, Amplicor (Roche). Las muestras eran remitidas a través del Laboratorio de Anatomía Patológica en el medio Pad Spin. A partir de Noviembre de 2009 se empezó a utilizar el medio Cobas PCR (Roche), el cual era remitido por el Servicio de Ginecología tras citar de nuevo a la paciente.

## RESULTADOS:

Se analizaron un total de 580 muestras utilizando el medio Pad Spin, de las cuales, el 20% (118) eran positivas, el 43% (248) negativas y el 37% (214) PCR indeterminadas. El tiempo medio de respuesta de los resultados fue de 23 días. Utilizando el medio Cobas PCR se han analizado un total de 412 muestras de las que el 36% (149) fueron positivas, el 63% (258) negativas y 1% (5) indeterminadas. El tiempo medio de respuesta de los resultados fue de 12 días.

## CONCLUSIONES:

1. A pesar de que el medio Pad Spin, ha sido utilizado en otros centros fuera de España para la realización de la técnica de PCR Amplicor, con nuestra experiencia, no sólo por el número de muestras indeterminadas, el coste sobreañadido por las repeticiones realizadas y el retraso en la obtención de resultados, consideramos que no es un medio idóneo para su uso en esta técnica. 2. En un futuro próximo, el laboratorio de Anatomía Patológica, adecuará sus equipos para poder trabajar con el medio Cobas Roche, evitando una segunda cita a la paciente y mejorar así los tiempos de respuesta diagnósticos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 146

### DETECCION DE MUTACIONES EN EL EXON12 DEL GEN JAK2 EN LAS NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS

*Trabajo de:* Biología Molecular.

*Autor/a/s:* Jimenez Marti Laura, Cabezas Fernandez Sandra, Colomer Pujol Dolors

*Centro de trabajo:* Hospital Clínic de Barcelona Servicio: Anatomía Patológica.

*Correo electrónico del primer firmante:* Lauramarti84@gmail.com

## Introducción:

El año 2005 se descubrió una mutación clonal en el exón 14 del gen JAK2 mutación que ha supuesto un avance en el conocimiento de las enfermedades mieloproliferativas y en su diagnóstico. En esta mutación hay un cambio puntual de una guanina (G) por una timidina (T) y como consecuencia se produce un cambio de una Valina por una Fenilalanina en la posición 617 (V617F) de la proteína. Esta mutación produce una actividad cinasa constitutiva de la proteína JAK2, dando lugar a una hipersensibilidad a citocinas e independencia de factores de crecimiento hematopoyético. La mutación de JAK2 V617F se ha descrito en más del 95 % de policitemias veras (PV) y en un 50-60 % de trombocitemias esenciales (TE) y mielofibrosis primarias (MP). En el año 2007 se describe que el 5 % de PV negativas para la mutación V617F pueden presentar mutaciones en el exón 12 de JAK2. Estas mutaciones están localizadas entre los aminoácidos 583 a 543. Así, en todo paciente con sospecha de PV se debe realizar un estudio de mutaciones del exón 12 de JAK2.

## Objetivos:

Analizar la presencia de mutaciones en el exón 12 de JAK2 en una serie de pacientes del Hospital Clínic en las que se conoce que no presentan la mutación V617F de JAK2.

## Métodos:

Se ha extraído el ADN de granulocitos obtenidos de sangre periférica de 68 pacientes y en las que se conocía que no presentaban la mutación V617F de JAK2. Se ha amplificado el exón 12 del gen JAK2 mediante PCR. El producto de amplificación se ha purificado mediante ExoSAP y se ha realizado la secuenciación directa del producto purificado para detectar la mutación.

## RESULTADOS:

Se han secuenciado y analizado 68 casos para el exón 12 del gen JAK2, y se ha observado la presencia de mutaciones en 3 casos.

## CONCLUSIONES:

La técnica de PCR y posterior secuenciación es un método válido y fiable para la detección de mutaciones en el exón 12 del gen JAK2. El porcentaje de casos que presentan mutaciones en el exón 12 del gen JAK2 es bajo, fundamentalmente por que el clínico lo pide como una prueba más para confirmar que se trata de una PV. Si se realizara el estudio en los casos seguros de PV el porcentaje de casos positivos sería superior.

### SEPARACIÓN DE LINFOCITOS T PARA EL ANÁLISIS DEL QUIMERISMO HEMATOPOYÉTICO MEDIANTE EL SISTEMA AUTOMACS® PRO SEPARATOR

*Trabajo de:* Biología Molecular.

*Autor/a/s:* Sandra Martínez Palacios, Nuria Medina Esteban, Marta Aymerich

*Centro de trabajo:* Hospital Clínic de Barcelona Anatomía patológica.

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* sany20@hotmail.com

#### Introducción:

En los pacientes sometidos a un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (TPH) se obtiene una situación de quimerismo (coexistencia en un mismo organismo de poblaciones celulares originarias en dos individuos genéticamente distintos), ya que el paciente trasplantado posee células de estirpe hematopoyética del donante. El estudio secuencial y frecuente en subpoblaciones celulares puras permite aumentar la sensibilidad para detectar quimerismo mixto (coexistencia en la sangre periférica de células hematopoyéticas del donante y del receptor) y así poder determinar un fallo del implante. AutoMACS® Pro Separator ofrece un sistema automatizado para la obtención de subpoblaciones celulares puras mediante anticuerpos monoclonales conjugados con bolas magnéticas. Las células marcadas (fracción positiva) son retenidas en una matriz por un campo magnético mientras que el resto de células pasan (fracción negativa). La fracción positiva es posteriormente eluida al retirar la fuerza del imán.

#### Objetivo:

Obtener subpoblaciones celulares puras (>95%) de linfocitos T mediante el método inmunomagnético con el separador celular AUTOMACS de Miltenyi Biotec para el análisis del quimerismo hematopoyético

#### MÉTODOS:

Se ha realizado la separación de subpoblaciones puras de linfocitos T y granulocitos en 20 pacientes sometidos a TPH y se ha analizado la pureza mediante citometría de flujo. A partir de sangre periférica se obtienen un concentrado de leucocitos mediante sedimentación celular con Dextrano 500. Posteriormente se separan los granulocitos de las células mononucleadas (CMN) por gradiente de densidad con Ficoll. Las CMN se incuban con los anticuerpos conjugados con bolas magnéticas (CD3 para linfocitos T). Seguidamente se pasa por el separador inmunomagnético mediante un programa de selección positiva. Finalmente se procede a la extracción de ADN para el análisis del quimerismo.

#### RESULTADOS:

Los resultados de la pureza para linfocitos T superiores al 90% y las cantidades obtenidas fueron suficientes para realizar el análisis molecular.

#### CONCLUSIONES:

El método descrito es simple y eficaz para la obtención de subpoblaciones celulares de una gran pureza y con un rendimiento óptimo.

### ANÁLISIS DE LA CUANTIFICACIÓN DEL GEN BCR-ABL1 MEDIANTE EL KIT ASURAGEN® BCR/ABL1 QUANT™ TEST (CE IVD)

*Trabajo de:* Biología Molecular.

*Autor/a/s:* Cabezas Fernández Sandra, Jimenez Marti Laura, Colomer Pujol Dolors

*Centro de trabajo:* Hospital Clínic Barcelona Servicio anatomía patológica.

*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 las 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 yuxtapa 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 las leucemias linfoblásticas agudas del adulto (LAL) y en el 2-5% de las LAL infantiles. Los casos con LMC presentan generalmente los transcritos b2a2 y b3a2 correspondientes a una proteína quimérica p210 y los casos de LAL el transcrito e1a2 correspondiente a la proteína quimérica p190. La cuantificación del gen BCR-ABL1 es fundamental, ya que tiene repercusiones en el manejo de estos pacientes. Para poder comparar resultados entre laboratorios se han calculado unos factores para que todos los laboratorios expresen los resultados en una escala internacional (IS).

El kit de Asuragen® BCR/ABL1 Quant™Test (life technologies) es un kit de monitorización del ratio BCR/ABL1/ABL1 mediante PCR cuantitativa PCR (RT-qPCR) a partir de ARN extraído de sangre periférica que está calibrado para expresar los resultados en la escala IS y que permite en un mismo pocillo analizar los transcritos b2a2, b3a2 y e1a2 y el gen control.

#### Objetivo:

Realizar un estudio comparativo en muestras de pacientes afectos de LMC y LAL entre el kit de Asuragen® BCR/ABL1 Quant™, el protocolo realizado rutinariamente en el laboratorio, es un método manual que utiliza las recomendaciones del programa europeo (EAC, Europe Against Cancer) y el kit comercial IPSOGEN FusionQuant®Kit.

#### MÉTODO:

Se han analizado 43 muestras, con diferente carga tumoral, con los tres métodos anteriormente mencionados. 11 correspondientes a la isoforma e1a2, 16 a la isoforma b2a2 y 16 a la isoforma b3a2. El ARN se ha extraído mediante Trizol y posteriormente se ha realizado el cDNA según los protocolos de cada método y posteriormente se han amplificado y cuantificado mediante pcr cuantitativa.

#### RESULTADOS:

Se han comparado los resultados obtenidos en los tres métodos BCR/ABL1 Quant™, IPSOGEN FusionQuant®Kits y el protocolo de la EAC en cada muestra. Se ha observado que hay una muy buena correlación entre métodos. Utilizando métodos estadísticos de comparación de resultados (método Bland and Altman) se demuestra que el kit BCR/ABL1 Quant™Test da resultados comparables al protocolo manual de la EAC y el kit de IPSOGEN kit FusionQuant®.

#### CONCLUSIONES:

Se demuestra que el kit BCR/ABL1 Quant™Test (CE IVD)\* tiene el mismo límite de detección que el protocolo recomendado de la EAC pero es más sencillo de utilizar. Con el sistema de detección simultánea y cuantificación de los tres transcritos predominantes de BCR/ABL1 (b2a2, b3a2, y e1a2), y el ABL1 como gen control, todo en una única reacción, se utiliza menos cDNA, menos reactivos y además se reduce el tiempo de preparación de las muestras. Y lo más importante es que realizar la reacción en un único pocillo hace que haya menos variabilidad en el ensayo, generando datos más reproducibles.

### INCIDENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE LA GRIPE AnH1N1 EN LA REGIÓN SANITARIA DEL CAMP DE TARRAGONA

*Trabajo de:* Biología Molecular.

*Autor/a/s:* Montserrat Perez Martínez, Vanessa Guerrero Hormiga, David Dorado Cabello, Yolanda Luceño Castilla, María Jesús Sancho Vilellas

*Centro de trabajo:* Laboratori Clínic ICS Camp de Tarragona. Hospital Universitari Joan XXII

*Provincia:* Tarragona

*Correo electrónico del primer firmante:* tac1962@telefonica.net

#### Introducción:

La gripe AnH1N1 es una enfermedad provocada por una nueva cepa del virus de la influenza A subtipo H1N1, identificada en abril de 2009, que se transmite entre los seres humanos. El origen de la infección es una variante de la cepa H1N1, con material genético proveniente de una cepa aviaria, dos porcinas y una humana.

#### Objetivo:

Determinar la incidencia y distribución de la gripe AnH1N1 en la población de la región sanitaria del Camp de Tarragona.

#### Material y métodos:

Estudio observacional realizado mediante los datos analíticos obtenidos durante la estación fría de septiembre de 2009 a febrero de 2010 y septiembre de 2010 a febrero de 2011. La determinación de gripe A se realizó con el reactivo RealTime ready Influenza A/H1N1 Detection set™(Roche, Mannheim, Germany).

#### RESULTADOS:

En el Hospital Joan XXIII se han realizado un total de 2262 determinaciones de gripe A (1764 del primer periodo y 498 del segundo), correspondientes a la región del camp de Tarragona. De estas un 44.12% proceden de los servicios internos del propio hospital y el 55.88% del resto de centros de la región sanitaria. Durante la estación fría de septiembre 2009 a febrero de 2010 se llevaron a cabo un total de 1.764 análisis de los cuales 464 (26.3%) fueron positivos y 1139 (64.57%) negativos, en 161 muestras (9.13%) no se obtuvo un resultado concluyente en un primer análisis. No hubieron diferencias en cuanto al número de solicitudes según sexo (49.8% correspondieron a hombres y 50.2% a mujeres). En el hospital Universitari Joan XXIII se solicitaron 757 análisis (42.91%) y los servicios se distribuyeron: urgencias 293 peticiones (38.71%), UCI 51 (6.74%), pediatría 258 (34.08%), medicina interna 48 (6.34%), hematología 17 (2.25%), pneumología 8 (1.06%) y otros servicios 27 (3.57%). La distribución de edad de las muestras positivas fue de 0-10 años 314 determinaciones (27.57%), 11-20 años 37 (3.25%), 21-40 años 225 (19.75%), 41-60 años 177 (15.54%), 61-80 años 210 (18.44%) y de 81-99 años 176 (15.45%).

Durante la estación fría de septiembre 2010 a febrero de 2011 se realizaron un total de 498 determinaciones, de las cuales 125 (25.10%) fueron positivas, 333 (66.86%) negativas y en 40 muestras (8.04%) no se obtuvo un resultado concluyente en un primer análisis. Se observa una pequeña diferencia en la distribución de solicitudes según sexo respecto al primer periodo (58.03% correspondieron a hombres y 41.97% a mujeres). En el hospital Universitari Joan XXIII se pidieron 241 determinaciones (48.39%) y los servicios se distribuyeron: Urgencias 45 (18.67%), UCI 31 (12.86%), pediatría 50 (20.75%), medicina

interna 49 (20.33%), hematología 8 (3.32%), pneumología 8 (3.32%) y otros servicios 22 (9.13%). Edad casos positivos 0-10 años 15(12%), 11-20 años 3(2.40%), 21-40 años 31(24.8%), 41-60 años 53(42.40%), 61-80 años 19(15.20%) y de 81-99 años 4(3.2%).

## CONCLUSIONES:

Durante el periodo post-pandémico 2010-2011 hubo una disminución significativa del número de peticiones para la determinación de gripe AnH1N1, tal como era esperable; aunque durante las estaciones frías 2009-2010 y 2010-2011 no se han observado diferencias en cuanto al porcentaje de positivos. Los servicios de urgencias y pediatría son los que más determinaciones solicitaron en las dos temporadas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 193

## APLICACION DE LA TECNICA MLPA PARA LA DETECCION DE SINDROMES MICRODELECCIONALES Y MICRODUPLICACIONALES

*Trabajo de:* Genética.

*Autor/a/s:* M<sup>a</sup> Yolanda Peláez Nora, Aurora Suárez Martos, José Antonio Barcia Barrera, Raquel Fernandez Garcia, Javier Sánchez, Guillermo Antiñolo Gil, Salud Borrego.

*Centro de trabajo:* Unidad de Gestión Clínica de Genética, Reproducción y Medicina Fetal. Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla.

*Correo electrónico del primer firmante:* yolandapelaez@yahoo.co.uk

## INTRODUCCION:

El estudio genético del Retraso Mental (RM) constituye uno de los campos más complejos de la genética humana, debido a la elevada heterogeneidad que presenta. El RM síndrómico es aquel que se asocia a otros rasgos clínicos, radiológicos, metabólicos o biológicos. Se sabe que las alteraciones cromosómicas estructurales que dan lugar a deleciones o duplicaciones parciales constituyen una causa importante de RM síndrómico, pero el estudio de estas reorganizaciones submicroscópicas requiere técnicas más sensibles que la citogenética convencional. La aparición de técnicas de citogenética molecular como la hibridación in situ fluorescente (FISH) o la hibridación genómica comparada (CGH) ha permitido avanzar en el conocimiento de la etiología del RM de base genética, especialmente el síndrómico. Entre las técnicas más novedosas para la detección de microduplicaciones y microdeleciones en todo el genoma cabría destacar la Multiplex Ligation Probe Amplification (MLPA) y los arrays de CGH. Especialmente interesante resulta MLPA, que permite la detección de alteraciones en el número de copia mediante la amplificación de sondas adyacentes que identifican una secuencia diana, pudiendo así caracterizarse pequeñas deleciones o duplicaciones que mediante otras técnicas pasan desapercibidas.

## METODOLOGIA

La UGC de Genética, Reproducción y Medicina Fetal de Hospital Universitario Virgen del Rocío tiene en su cartera de servicio la aplicación de la técnica MLPA para la detección de los síndromes microdeleccionales/microduplicacionales asociados a RM síndrómico más frecuentes. El Kit empleado, denominado SALSA MLPA P245 ([www.mrc.holland.com](http://www.mrc.holland.com)), contiene sondas para la detección de los siguientes síndromes: deleción 1p36, microdeleción 2p16, microdeleción 3q29, microdeleción 9q22.3, deleción 15q24, microdeleción 17q21, 22q13 / Phelan-McDermid, síndrome Cri du Chat, síndrome de DiGeorge (regiones 22q11 y 10p15), síndrome Langer-Giedion (8q), síndrome Miller-Dieker (17p), síndrome de microdeleción NF1, Potocki-Lupski, Prader-Willi / Angelman, síndrome de duplicación MECP2 / Xq28, Rubinstein-Taybi, Smith-Magenis, Sotos, Wagr, Williams y Wolf-Hirschhorn.

## RESULTADOS:

Una vez validada la técnica se ha procedido a testar un total de 420 pacientes con RM acompañado de otras alteraciones (frecuentemente dismorfias), para muchos de los cuales no se tenía una sospecha clínica precisa. Resultó muy interesante el hecho de que un total de 54 pacientes (13%) mostraron alteraciones en el perfil de MLPA indicativas de alguno de los síndromes analizados, que posteriormente fueron confirmadas por FISH. Más concretamente logramos identificar 4 pacientes con deleción 1p36, 2 con microdeleción 3q29, 3 con microdeleción 17q21, 1 con duplicación 17p11.2, 1 con síndrome de Phelan McDermid, 1 con síndrome de Cri du Chat, 14 pacientes con síndrome de DiGeorge o CATCH22, 2 pacientes (madre e hijo) con duplicación 22q11, 2 pacientes con síndrome de Potocki-Lupski, 8 con síndrome de Prader-Willi, 1 con síndrome de Angelman, 1 con duplicación 15q11-q13, una familia con duplicación Xq28 (un paciente afecto y 3 portadoras), 2 pacientes con Smith-Magenis, y 8 pacientes con síndrome de Williams.

## CONCLUSIONES:

Nuestros resultados ponen de manifiesto la enorme utilidad del empleo de MLPA para la detección simultánea de una amplia variedad de síndromes de genes contiguos, especialmente cuando no se tiene una sospecha clínica clara. Mientras que el FISH o el bandeado G se utilizan clásicamente en un laboratorio de citogenética clínica, el MLPA es una técnica más reciente, eficiente, económica y simple, que sólo precisa ADN genómico para llevarla a cabo. Además con el MLPA se pueden identificar deleciones más pequeñas con una mayor resolución, que podrían perderse por FISH.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 194

## DIAGNOSTICO GENETICO PREIMPLANTATORIO DE LA DISTROFIA MIONICA TIPO 1 O ENFERMEDAD DE STEINERT

*Trabajo de:* Genética.

*Autor/a/s:* Aurora Suárez Martos, Matilde Romero, Yolanda Peláez, Raquel Fernandez, Guillermo Antiñolo, Salud Borrego.

*Centro de trabajo:* Unidad de Gestión Clínica de Genética, Reproducción y Medicina Fetal. Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla.

*Correo electrónico del primer firmante:* aurorinasuarez@yahoo.es

## INTRODUCCION:

La distrofia miotónica tipo 1 (DM1, OMIM#160900) o enfermedad de Steinert es la forma más común de distrofia muscular en el adulto. Presenta un modo de herencia autosómica dominante con una incidencia aproximada de 1 en 8000. Está caracterizada por debilidad y atrofia muscular, evidencia clínica y electromiográfica de miotonía, cataratas, deterioro intelectual, defectos de conducción cardíaca, atrofia testicular en varones y calvicie prematura. En el 98% de los casos con DM1 clásica la causa molecular es una expansión del número de repeticiones CTG en la región 3'UTR del gen DMPK (19q13.32, OMIM\*605377). Se estima que el rango normal de repeticiones se encuentra entre 3 y 37. En pacientes afectados de DM1 leve, o incluso asintomáticos, el nº de repeticiones oscila entre 42 y 150, mientras que en pacientes con expresión severa de la enfermedad o con DM congénita el nº de repeticiones puede llegar a ser superior a 2000.

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 la DM1 (50%).

## METODOLOGIA

La UGC de Genética, Reproducción y Medicina Fetal del Hospital Universitario Virgen del Rocío ha implementado un método molecular aplicado al PGD de DM1. Se basa en una PCR múltiple que permite amplificar simultáneamente la región donde se ubica la expansión CTG del gen DMPK, así como otros 3 marcadores microsatélite (APOC2, D19S112 y D19S219) próximos a dicha región. Las parejas incluidas en el programa de 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. 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 11 ciclos de PGD en 9 parejas con alguno de los 2 miembros afectados, y ha permitido el diagnóstico fiable del 100% de los embriones analizados (42 embriones en total). Como consecuencia se ha podido realizar un total de 9 transferencias resultantes en 5 embarazos. El mismo método ha sido aplicado al diagnóstico prenatal sobre biopsia de corion en 2 de dichos embarazos, obteniéndose plena concordancia con los resultados previos de PGD.

## CONCLUSIONES:

Nuestra Unidad ha optimizado un método de diagnóstico molecular de DM1 con especial utilidad en su aplicación al PGD, aunque también aplicable a diagnóstico prenatal y de valoración de riesgo familiar de la enfermedad en las familias afectadas. 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: 197

## PROTOCOLO DE DIAGNOSTICO GENETICO MOLECULAR DEL SINDROME DE NEOPLASIA ENDOCRINA MULTIPLE TIPO 1.

*Trabajo de:* Genética.

*Autor/a/s:* Matilde Romero Zarco, Yolanda Peláez Nora, M<sup>a</sup> Angeles Corzo López, 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.

*Correo electrónico del primer firmante:* matilde.romero.sspa@juntadeandalucia.es

## INTRODUCCION:

La neoplasia endocrina múltiple de tipo 1 (MEN1, OMIM#131100) es un síndrome tumoral hereditario poco frecuente. Se caracteriza por la presencia de tumores de la paratiroides,

del páncreas endocrino y de la hipófisis anterior. La penetrancia es extremadamente alta y su herencia es autosómica dominante. La prevalencia es de aproximadamente 1 de cada 30.000 personas. El síndrome MEN1 está causado por la presencia de mutaciones que inactivan el gen supresor de tumores MEN1. El gen MEN1 (OMIM\*613733) se sitúa en el cromosoma 11q13 y codifica para la menina, una proteína nuclear de 610 aminoácidos implicada en la regulación de diversas funciones celulares tales como la replicación y la reparación del ADN.

## METODOLOGÍA

Nuestra Unidad tiene en su cartera de servicios el estudio genético del síndrome MEN1, y desde 2008 ha realizado el rastreo mutacional del gen MEN1 en un total de 13 probandos con alguna clínica sugestiva de esta patología. El rastreo mutacional se lleva a cabo mediante la técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction) y dHPLC (denaturing High Performance Liquid Chromatography) de cada uno de los 9 exones codificantes de MEN1. La detección de perfiles aberrantes tras el análisis de los resultados es indicativa de la presencia de variantes de secuencia en heterocigosis. Dichas variantes son caracterizadas posteriormente mediante secuenciación directa del correspondiente exón, y evaluación de su posible efecto patogénico. Una vez caracterizados los cambios de secuencia, se determina si se trata de variantes comunes en la población (comúnmente conocidas como polimorfismos), o mutaciones relacionadas con la patogénesis de la enfermedad.

## RESULTADOS:

El método de screening mediante dHPLC ha sido validado mediante secuenciación, demostrando un 100% de sensibilidad de esta técnica. Se han detectado un total de 3 mutaciones diferentes en la serie de pacientes analizada. La primera de dichas mutaciones es un cambio missense no descrito previamente en la literatura, c.539T>G (p.Leu180Arg), que segrega con la enfermedad en la familia, y que además está ausente en un grupo de 100 controles sanos testados. La segunda mutación consiste en una delección c.2679delA, que genera un codón de parada prematuro en el aminoácido 557, y por tanto una proteína menina defectuosa de menor tamaño. Finalmente, la última mutación es otro cambio missense, c.125G>T (p.Gly42Val), que ya había sido descrito previamente como asociado a MEN1.

Asimismo se han estudiado 7 familiares de los pacientes con mutación identificada para estudio presintomático de la enfermedad, detectándose mutación en 2 de ellos.

## CONCLUSIONES:

- 1) El método de screening de MEN1 mediante dHPLC implementado en nuestra Unidad, es un método altamente sensible y fiable para la detección de cambios de secuencia asociados a MEN1, con las ventajas de constituir una opción sencilla, económica y rápida para la realización del diagnóstico molecular de MEN1.
- 2) Hemos identificado mutación en 3 de las 13 familias estudiadas (23%). La detección e identificación de la mutación existente en el paciente índice nos permite realizar un cribado posterior del resto de los familiares en riesgo de portar esta misma mutación. Este estudio permite hacer un seguimiento y un diagnóstico precoz a los familiares con posibilidad de desarrollar alguno de los tumores relacionados con MEN1, y a su vez tranquilizar y disminuir la ansiedad a aquellos familiares que no resulten portadores de la mutación presente en su familia.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 199

## DIAGNOSTICO PRENATAL DE UN CROMOSOMA 14 EN ANILLO

Trabajo de: Genética.

Autor/a/s: María Angeles Corzo López, José Antonio Barcia Barrera, Aurora Suarez Martos, Javier Sanchez García, Rosario María Morales Camacho, Guillermo Antiñolo Gil, Salud Borrego López.

Centro de trabajo: (Unidad Clínica de Genética, Reproducción y Medicina Feta (H.U.V.R))

Correo electrónico del primer firmante: (mariaa.corzo.sspa@juntadeandalucia.es)

## Introducción:

Los mosaicismos cromosómicos en diagnóstico prenatal, en muchos casos, son difíciles, de identificar si no se analizan un número suficiente de células, pudiendo ser una fuente de errores diagnósticos, así como su interpretación y consecuencias fenotípicas. El cromosoma 14 en anillo se trata de una rara anomalía citogenética asociada a retraso del crecimiento, dismorfia facial, hipotonía, epilepsia y retinitis pigmentosa. Pocos casos hay descrito de diagnóstico prenatal con un mosaicismo con un cromosoma 14 en anillo y una línea con monosomía del cromosoma 14.

## PACIENTES Y MÉTODO

Describimos el diagnóstico prenatal en una mujer de 32 años, primípara, sin antecedentes personales de interés que acude a nuestro centro por posible cardiopatía fetal. El análisis ecográfico a la 24/7 semanas de gestación revela una discreta asimetría de cavidades cardíacas. Se realiza una cordocentesis, obteniéndose 1,5 ml de sangre fetal y en el mismo acto se extraen 20 ml de líquido amniótico.

El cultivo de 48 hrs. y de 72 hrs. de linfocitos fetales reveló una dotación cromosómica con dos líneas celulares:

mos 45,XY,-14,+mar[27]/46,XY,-14[3]

Realizamos hibridación in situ fluorescente con la sonda break apart LSI IGH (Vysis) localizada en 14q32. El patrón de hibridación es compatible con un cromosoma 14 en

anillo con el punto de rotura entre la sonda LSI IGH 3' y la sonda de la zona variable de la cadena pesada de las inmunoglobulinas LSI IGHV. En consecuencia la nueva fórmula cromosómica sería:

46,XY,r(14)(p11.1q32.3).ish r(14)(5 IGH-3 IGHx1)[27]/45,XY,-14[3]

El análisis citogenético en líquido amniótico, igualmente, reveló la presencia de dos líneas celulares. Sin embargo, el porcentaje de las diferentes líneas celulares era claramente diferente:

45,XY,-14[19]/46,XY,r(14)(p11.1q32.3)[5]

## COMENTARIOS

El cariotipo de ambos padres fue normal.

Ante estos resultados la pareja decidió llevar a cabo una interrupción voluntaria del embarazo.

Los mosaicismos cromosómicos en diagnóstico prenatal son, en su mayoría difíciles de interpretar y determinar sus posibles consecuencias fenotípicas. En especial los cromosomas en anillo se comportan de forma muy inestable en cultivo, tendiendo a perderse en sucesivas divisiones. Este hecho ha quedado patente al estudiar tanto la sangre fetal como las células de líquido amniótico. Mientras que en linfocitos fetales, que se cultivaron durante 48-72 hrs., la presencia del r(14) era mayoritaria, en las células de líquido amniótico, cultivadas durante 10-14 días, había una tendencia a perder el r(14).

Mediante hibridación in situ fluorescente hemos demostrado que el punto de rotura se sitúa en 14q32 interrumpiendo el gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas. El cromosoma r(14) se asocia a un fenotipo con múltiples anomalías, retraso mental, dismorfias, hipotonía, epilepsia y retinitis pigmentosa. En pocos casos se ha asociado el punto de rotura con una facilidad para las infecciones en los recién nacidos, que estaría justificada por la presencia de una única copia del gen responsable de la IGH y por tanto una predisposición a posibles infecciones.

Resulta interesante destacar el seguir siempre las directrices de controles de calidad de número de metafases a contar y analizar con el fin de detectar posibles mosaicismos que estén representados en un porcentaje bajo.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 221

## ASOCIACION ENTRE LOS POLIMORFISMOS DEL RECEPTOR TIPO TOLL Y CANCER DE PRÓSTATA.

Trabajo de: Genética.

Autor/a/s: Ana Isabel Rodríguez Fernandez, Rafa Carretero Coca, Macarena Guirado Rodríguez, Natalia Aptsiauri, Pablo Saenz-Lopez Larrocha

Centro de trabajo: H.U VIRGEN DE LAS NIEVES

Provincia: Granada

Correo electrónico del primer firmante: anabelrofe@hotmail.com

## Introducción:

El cáncer de próstata es uno de los cánceres más comunes y un importante problema de salud pública en muchos países industrializados. La Comprensión de los factores asociados a la mortalidad del cáncer de próstata, así como la incidencia, es importante dada la heterogeneidad biológica de la enfermedad. Los Receptores tipo Toll (TLR) juegan un papel en la respuesta de la inmunidad innata. Los polimorfismos en los genes TLR podrían influir en la susceptibilidad y la progresión de la enfermedad mediante la alteración de la respuesta a la infección y los efectos inflamatorios.

## Objetivo:

Nuestro propósito en este estudio fue el determinar la asociación entre los polimorfismos de TLR3, TLR7, TLR8, TLR9 y TLR10 con el riesgo y los parámetros clínicos para el cáncer de próstata en la población Española.

## Material y método:

El estudio caso/control fue diseñado para observar la asociación de los polimorfismos TLR3 T/C (rs3775291), TLR3 A/T (rs5743305), TLR7 G/T (rs 2302267), TLR7 A/T (rs 179008), TLR8 A/G (rs 5744082), TLR8 A/G (3764880), TLR9 C/T (rs 352140), TLR9 C/T (rs5743846), TLR10 T/G (rs11096955) y TLR10 T/C (rs4129009) con los parámetros clínicos y riesgo de padecer cáncer de próstata en 405 pacientes diagnosticados con cáncer de próstata, y 271 personas sanas que utilizamos como controles y que provenían de la misma área. Los resultados se analizaron mediante el programa estadístico de SPSS.

## RESULTADOS:

El riesgo de padecer cáncer de próstata se asocio significativamente con los polimorfismos TLR3 (rs377591) (p=0,028), TLR3 (rs5743305) (p=0.013), TLR9 (rs 352140) (p=0.037), TLR10 (rs 4129009) (p=0.041), TLR10 (rs 11096955) (p=0.034). En los parámetros clínicos existió una asociación significativa entre el estadio y el polimorfismo TLR3 (rs377591) (p=0.028), entre la PSA inicial y los polimorfismos TLR3 (rs377591) (p=0.044), TLR9 (rs 352140) (p=0.014), y el Gleason con el polimorfismo TLR9 (rs 352140) (p=0.019). No se encontró ninguna asociación con el riesgo ni con los parámetros clínicos y los polimorfismos del TLR7 y TLR8.

## Conclusión:

Nuestro estudio sugiere que el polimorfismo del TLR (TLR3, TLR9 y TLR10) influye en el riesgo de cáncer de próstata y su progresión. Estudios adicionales se requieren en otras poblaciones para examinar más a fondo el potencial de estos loci genéticos que confieren susceptibilidad para el cáncer de próstata.

## TROMBOFILIA HEREDITARIA: ANÁLISIS DE MUTACIONES DEL FACTOR V LEIDEN Y EL FACTOR II PROTROMBINA

*Trabajo de:* Biología Molecular.

*Autor/a/s:* Sandra Raso, Olalla Alix, Elisa Ramirez, M. Victoria Olabarría, Mónica Herrera

*Centro de trabajo:* UNILABS

*Provincia:* MADRID

*Correo electrónico del primer firmante:* sandra\_raso@hotmail.es

### Introducción:

La trombofilia heredada predispone a un individuo a padecer trastornos trombóticos tales como la trombosis venosa, enfermedad cardiovascular que ocupa un tercer lugar en cuanto a frecuencia. La resistencia a la proteína C activada se considera el trastorno de la coagulación más importante asociado a la trombosis venosa. Una mutación puntual en la posición 1691 del gen del Factor V, denominada mutación del Factor V Leiden, resulta en un cambio de la arginina por una glutamina en la posición 506 de la proteína del Factor V y, como consecuencia, una resistencia parcial a la inactivación por PCA. En los pacientes con resultado positivo a la resistencia a la mutación del Factor V Leiden se les debe realizar un análisis genético molecular de las trombofilias más habituales con fenotipo solapado, para las que existen análisis como la determinación del Factor II de la Protrombina. Los test del Factor V Leiden y del Factor II de la protrombina se utilizan como pruebas de diagnóstico in Vitro, en pacientes con sospecha de trastorno trombótico o historia familiar de trombosis.

### Objetivo:

Los test del Factor V Leiden y del Factor II de la protrombina se utilizan como pruebas de diagnóstico in vitro

El valor diagnóstico de la prueba reside en la detección de homocigotos y heterocigotos, para determinar así el riesgo de una posible trombosis y tratarla antes de que suceda.

### Materiales y métodos:

-Extractor automático Magna Pure (Roche): Extracción de DNA a partir de 1ml de sangre periférica anticoagulada con EDTA.

-LightCycler (Roche): Detección y genotipado de una mutación en un solo punto (G por A en las posiciones 1691 en el caso del gen del Factor V y en la 20210 cuando se trata del gen del Factor II humano), mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa para la amplificación del DNA, y la hibridación fluorogénica específica para la detección y el genotipado del DNA amplificado.

### RESULTADOS:

Los individuos homocigotos para una de las dos mutaciones o los dobles heterocigotos presentan un riesgo mucho mayor de padecer trombosis que los heterocigotos para una de ellas. La asociación de estas mutaciones con un defecto en la antitrombina, o en las proteínas C y S inhibitoras incrementa sustancialmente el riesgo trombótico.

### CONCLUSIONES:

El descubrimiento de nuevos factores congénitos en pacientes con trombosis ha cambiado las aproximaciones al diagnóstico. La detección y genotipado de mutaciones asociadas a trombofilia permite un rápido y fiable diagnóstico, crucial en la prevención y éxito del tratamiento aplicado.

## ESTADO MUTACIONAL DEL GEN KRAS EN PACIENTES CON CARCINOMA COLORECTAL METASTÁSICO.

*Trabajo de:* Biología Molecular.

*Autor/a/s:* Elena Torres Carrasco, Alicia Vera Vega, Esther Ocaña Pérez

*Centro de trabajo:* Complejo Hospitalario de Jaén

*Correo electrónico del primer firmante:* etc696@gmail.com

### INTRODUCCION:

El cáncer colorrectal constituye hoy en día un importante problema epidemiológico de salud ya que es la primera causa de muerte por cáncer en España. La necesidad de tratamiento no quirúrgico pone en juego la utilización de la quimioterapia tradicional a la que se le suma la quimioterapia oral, como por ejemplo, la utilización de anticuerpos monoclonales dirigidos contra receptores de membrana, Cetuximab, que actúa bloqueando un receptor clave, el EGFR (Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico) que se encuentra sobreexpresado en la mayoría de los cánceres colorrectales. Un hecho de mayor interés es que el tratamiento con Cetuximab solo son activos si en la ruta de la señalización del EGFR no existen mutaciones en una proteína (KRAS) que actúa más abajo a nivel intracelular. El definir que pacientes se beneficiarán con tratamientos noveles permitirá evitar toxicidad innecesaria y gastos desmesurados. Estudios previos en otras poblaciones, describen la presencia de mutaciones en el gen KRAS en aproximadamente el 40% de los pacientes diagnosticados de cáncer colorrectal metastásico.

### Objetivo:

El objetivo de este trabajo fue identificar la frecuencia de mutaciones del gen KRAS en nuestros pacientes e identificar los tipos de mutación K-ras observados en los pacientes

### MATERIALES Y METODOS:

Se analizaron 53 muestras de tejido incluido en parafina, de sexo masculino y femenino, referidos de el Servicio de Oncología del Complejo Hospitalario de Jaén, con diagnóstico anatomopatológico de adenocarcinoma colorrectal. El análisis de mutaciones en el gen KRAS incluye cuatro pasos: 1) Selección de pacientes susceptibles de análisis. 2) Selección del área tumoral de interés, llevado a cabo por el Servicio de Anatomía Patológica 3) Extracción de ADN (Quiagen). 4) Análisis de las mutaciones. El análisis de las mutaciones se llevo a cabo utilizando el kit comercial TheraScreen K-RAS DxS Diagnostic Innovations, Manchester, UK). El test detecta siete mutaciones (en los codones 12 y 13 del oncogen K-RAS) mediante ensayo de PCR en tiempo real basado en la tecnología Scorpions.

### RESULTADOS:

De los 53 casos remitidos al laboratorio, se detectó mutaciones en 16 pacientes, lo que supone un 32,2% del total de los pacientes remitidos. En todos los casos enviados al laboratorio para su análisis fue posible realizar el estudio genético. Respecto a la frecuencia de las mutaciones encontradas en nuestros pacientes encontramos los siguientes resultados en 8 pacientes se detectó la mutación 12 ASP (8 casos, 50%), siendo esta la mutación más frecuente en nuestra población, en 4 pacientes se encontró la mutación 12 VAL (25%), en 3 pacientes encontramos la mutación 13 ASP (18,75 %) y en 1 paciente la mutación 12 CYS (6,25%).

### CONCLUSIONES:

Los resultados obtenidos en el análisis genético de nuestra población coincide con lo descrito actualmente en la bibliografía, tanto en el porcentaje de pacientes portadores de la mutación como en la frecuencia de las mutaciones detectadas.

## EL GEN FHIT REGULA POSITIVAMENTE LA EXPRESIÓN DE MOLÉCULAS MHC EN SUPERFICIE

*Trabajo de:* Biología Molecular.

*Autor/a/s:* Isabel Linares Dickler, Cristina Garrido López, Ana Belén Rodríguez Martín, Ángel Miguel García Lora e Irene Romero García

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Virgen de las Nieves

*Provincia:* Granada

*Correo electrónico del primer firmante:* isa80ld@hotmail.com

### Introducción:

En nuestro laboratorio, generamos un modelo tumoral murino compuesto por diferentes líneas metastásicas derivadas desde un mismo clon celular obtenido desde un fibrosarcoma inducido por metilcolantreno. Metástasis obtenidas de ratones inmunocompetentes presentan pérdida de expresión en superficie de moléculas H-2 de clase I; mientras que metástasis obtenidas desde ratones nude presentan expresión en superficie de las tres moléculas MHC de clase I. La pérdida de expresión MHC de clase I se debe a una baja regulación coordinada de varios genes de la maquinaria de procesamiento y presentación antigénica (APM).

### Objetivos:

Analizar los genes que podrían estar implicados en esta baja expresión de la APM

### Materiales y métodos:

Construimos una librería de sustracción de cDNAs comparado líneas tumorales que presentaban cada uno de los fenotipos MHC de clase I. También se realizaron microarrays de expresión génica. Varios de los genes encontrados expresados diferencialmente fueron analizados por RT-PCR a tiempo real. Se realizaron ensayos de siRNA para el bloqueo de la expresión génica.

### RESULTADOS:

Los ensayos de librería de sustracción de cDNAs y microarrays mostraron que cuatro genes presentaban expresión diferencial entre estas metástasis: Ap2+, Fhit, Glis-1 y Myc. Los resultados de Real-Time-RT-PCR mostraron que solo dos genes, Ap2+ y Fhit, eran expresados en las metástasis MHC-I positivas y no expresados en las metástasis MHC-I negativas. Bloqueo de la expresión de estos dos genes mediante siRNA mostró que el gen Fhit está implicado en la expresión de moléculas MHC-I en estas células, mientras que no se encontró implicación del gen Ap2+.

### Conclusión:

Los resultados muestran que la pérdida de expresión del gen Fhit en estas células tumorales está implicada en la pérdida de expresión de moléculas MHC-I. La expresión del gen Fhit regula la expresión coordinada de varios genes de la APM.



## IDENTIFICACIÓN DE UNA NUEVA ALTERACIÓN GENÉTICA ASOCIADA AL SÍNDROME DE MARFAN EN UNA FAMILIA ORIGINARIA DE LAS ISLAS CANARIAS.

*Trabajo de:* Genética.

*Autor/a/s:* Bolaños Macías Rosa Delia, Marrero Marrero Pino, Diaz Zamora Alicia, Artilles Estupiñán Isabel, Diaz Ramos Rubén, Santana Rodríguez Alfredo.

*Centro de trabajo:* Complejo Hospitalario Universitario Insular-Materno Infantil y Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín.

*Provincia:* Las Palmas

*Correo electrónico del primer firmante:* rosiboma@terra.es

### Introducción:

El síndrome de Marfan (SM) es un trastorno genético que afecta a las fibras elásticas del tejido conectivo, manifestándose en aquellos sistemas u órganos que la contienen en mayor concentración tales como el cardiovascular, esquelético, dura madre, ocular, piel, tegumentos y pulmón. Presenta un patrón de herencia autosómico dominante y se asocia mayoritariamente a alteraciones genéticas en el gen FNB1, localizado en la región cromosómica 15q21, que codifica para la proteína fibrilina-1. Es un Síndrome de gran heterogeneidad génica; en la actualidad hay descritas más de 600 mutaciones distintas.

### Objetivos:

- 1-Establecer un diagnóstico genético certero en un paciente con criterios clínicos de SM.
- 2- Diseñar un procedimiento robusto que permita el diagnóstico genético de otros familiares.
- 3- Verificar la eficacia del procedimiento diagnóstico en muestras prenatales.

### Material y métodos:

El caso índice de la familia canaria en estudio se seleccionó por presentar una clínica clara y evolucionada totalmente compatible con SM. Posteriormente se estudiaron el resto de familiares en primer y segundo grado de parentesco. Tras obtención de una muestra de sangre periférica anticoagulada, se aisló ADN genómico de alta calidad. Tras amplificación génica de 15 exones del gen FNB1, fueron purificados y secuenciados. Un análisis bioinformático de las secuencias obtenidas permitió su comparación con las secuencias de referencia para el gen FNB1 (NM\_000138.2).

Tras la identificación de la mutación puntual en el caso índice se puso a punto un procedimiento específico de análisis directo mediante tecnología PCR-RFLP que fue validado en genomas aislados de sangre periférica, líquido amniótico y vellosidades coriales.

### RESULTADOS:

Los análisis genéticos practicados en el genoma del caso índice nos permitió encontrar la variante nucleotídica c.8020T>A (p.C2674S) en heterocigosis. El análisis predictivo in silico identifica una mutación de sentido erróneo que genera un cambio de aminoácido de cisteína a serina en la posición 2674 de la fibrilina-1. Este cambio no ha sido descrito en la bibliografía internacional consultada. Por ello, y para garantizar la relación genotipo-fenotipo fue necesario estudiar al resto de familiares. La aplicación de un procedimiento específico diseñado por nosotros permitió identificar la alteración genética en todos los miembros de la familia con clínica sugestiva de SM. Asimismo, la mutación no estuvo presente en el genoma de un familiar carente de signos de SM.

El procedimiento diagnóstico puesto a punto fue validado en genomas de muestras prenatales lo que permite la aplicación del mismo a futuros embarazos pudiéndose ofertar Consejo Genético (diagnóstico prenatal y/o preimplantacional) en los pacientes que así lo soliciten.

### CONCLUSIONES:

Se ha identificado una nueva alteración genética (c.8020T>A) en el gen FNB1 probablemente asociada al SM. La prevalencia e incidencia de enfermedades genéticas es especialmente elevada entre habitantes de las Islas Canarias por su peculiar situación geográfica y su historia reciente. En este, como en otros tantos casos, hemos podido identificar, por primera vez, una nueva mutación asociada a una enfermedad genética que nos está permitiendo no sólo su diagnóstico sino establecer líneas de investigación específicas que aclaren la fisiopatología de la misma.

## DISEÑO DE UN PROTOCOLO EXPERIMENTAL PARA EL ENSAYO MS9 REALTIME DE CÁNCER COLORRECTAL DIRIGIDO AL PERSONAL TÉCNICO DE LABORATORIO

*Trabajo de:* Genética.

*Autor/a/s:* CONSUELO MEROÑO AGUILAR, ASCENSIÓN ZAMORANO CUESTA

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO DOCTOR PESET SERVICIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS

*Correo electrónico del primer firmante:* conmea@alumni.uv.es

### Introducción:

El cáncer colorrectal es el segundo tipo de cáncer diagnosticado de novo y la segunda causa de muerte por cáncer en la Unión Europea. Muchas de estas muertes pueden evitarse mediante la realización de un cribado en la población diana que permita el diagnóstico precoz y un tratamiento adecuado. La técnica gold standard para el cáncer colorrectal es la colonoscopia, sin embargo la incomodidad para el paciente, la complejidad de su realización y su elevado coste ha hecho que se apliquen otras técnicas de cribado técnicamente más sencillas, como es el inmunotest de sangre oculta en heces que tiene como inconveniente la recogida de heces que implica un elevado rechazo entre la población diana. El ensayo ms9 RealTime Colorectal Cancer de Abbott identifica la presencia del gen metilado de la Septina 9 en el plasma humano. Se ha demostrado en diversos estudios que la metilación del promotor del gen de la Septina 9 está relacionada con la presencia de cáncer colorrectal. La utilización de esta técnica permite realizar el cribado con una simple extracción de sangre, con las ventajas del ahorro en coste, menores molestias para el paciente y la mejora en el cumplimiento. El Servicio de Análisis Clínicos del H. U. Dr. Peset ha planteado un proyecto de investigación para evaluar el ensayo ms9 RealTime Colorectal Cancer de Abbott que requiere necesariamente del diseño de un protocolo de trabajo focalizado en el personal técnico de laboratorio no entrenado previamente en el uso de los equipos ni de las técnicas utilizadas de análisis genético. En este estudio se describe la realización de este diseño paso a paso.

### Objetivos:

Los objetivos de este estudio son: 1) elaborar procedimientos de trabajo adecuados para el desarrollo del proyecto de investigación descrito, 2) evaluar la necesidad de la participación del personal técnico de laboratorio en el diseño de los procedimientos.

### Material y métodos:

El ensayo ms9 RealTime Colorectal Cancer de Abbott requiere los equipos de extracción de ADN m24sp y el termociclador en tiempo real m2000rt con el software específico. La base de datos se realiza con Microsoft Access. La realización de los protocolos de trabajo requiere la búsqueda de información relevante en Internet mediante buscadores especializados y generales.

### RESULTADOS:

Se ha realizado el diseño necesario para llevar a cabo un proyecto de investigación desde el punto de vista del personal técnico de laboratorio, en los siguientes términos:

1. División de tareas entre el personal técnico de laboratorio y personal especialista y planificación cronológica del diseño.
2. Puesta a punto de un protocolo de manipulación del material y equipos, debido a las características especiales de los análisis de Biología Molecular y Genética.
3. Entrenamiento del personal técnico de laboratorio en el manejo de los equipos.
4. Creación y mantenimiento de una base de datos del proyecto de investigación por parte del personal técnico, que incluye el archivo de las muestras y resultados.
5. Identificación de los problemas encontrados durante la realización del protocolo experimental y en la fase de entrenamiento: sesiones informativas para el personal técnico para detectar y corregir errores y mejorar la eficiencia del proceso.

### CONCLUSIONES:

Se demuestra la necesidad de elaborar un protocolo dirigido al personal técnico de laboratorio en el ámbito clínico cuando se implementa una nueva técnica de análisis en la que no se posee experiencia previa. La realización de protocolos y el entrenamiento individualizado tanto del personal especialista como del personal técnico resulta ser fundamental para el éxito de la nueva técnica introducida. Es responsabilidad de ambos colectivos el diseño del procedimiento experimental y de la evaluación de los resultados obtenidos desde el punto de vista técnico.

## ESTUDIO DE LA CINÉTICA DE DESARROLLO EMBRIONARIO EN FUNCIÓN DE LA CALIDAD SEMINAL MEDIANTE ANÁLISIS DE IMAGEN SEGÚN CRITERIOS DE LA OMS 2010.

*Trabajo de:* Genética.

*Autor/a/s:* Mar Martínez, Inmaculada Pérez-Cano, Blanca Gadea, María Roldán, María Cruz, Marcos Meseguer, Manuel Muñoz.

*Centro de trabajo:* IVI Alicante. Laboratorio de FIV. Avd/ Denia 111. CP 03015. Alicante.

*Provincia:* Alicante

*Correo electrónico del primer firmante:* MdelMar.Martinez@ivi.es

### Introducción:

La calidad seminal es un factor limitante en la elección de la Técnica de Reproducción Asistida. De hecho esta decisión puede determinar el éxito o el fracaso de cualquier procedimiento, pero una vez elegida la forma de fecundación más apropiada la calidad embrionaria no se ve afectada.

Hasta el momento los programas de Fecundación in Vitro (FIV) basan los procesos de selección embrionaria en la evaluación morfológica de los embriones. Sin embargo, ahora disponemos de grandes avances tecnológicos que nos permiten obtener imágenes en tiempo real de todos los procesos de división embrionaria, lo que nos facilita mucha más

información y nos ayuda a estudiar las posibles relaciones de distintos parámetros con los tiempos de división de los embriones.

#### Objetivo:

El objetivo de nuestro trabajo fue determinar, mediante un incubador con un sistema de análisis de imagen integrado (Embryoscope. Unisense Fertilitect, Aarhus, Dinamarca), si dos de las características seminales; concentración y movilidad (basadas en los criterios de la Organización Mundial de la Salud 2010) influyen sobre la cinética de división embrionaria.

#### Material y métodos:

Se realiza un estudio retrospectivo, en el que se analizan 721 embriones procedentes de 121 ciclos de donación de óvulos. Clasificamos las muestras de semen en cuatro categorías en función de la concentración (<15 mill./ml OLIGOZOOSPERMICOS; ≥ 15 mill./ml NO OLIGOZOOSPERMICOS) y la movilidad (<32% ASTENOZOOSPERMICOS ;≥32% NO ASTENOZOOSPERMICOS).

Con el Embryoscope se evalúan los tiempos de desaparición de los pronúcleos (DPN), la primera y segunda división embrionaria (1º DE y 2º DE) y la formación del blastocisto (B). El análisis estadístico incluye una T-Student para la comparación de medias y una Chi-cuadrado para comparar proporciones, con un nivel de significación p<0,05.

#### RESULTADOS:

Analizando nuestros resultados determinamos que no se observan diferencias significativas en los tiempos de división embrionaria en función de la concentración y la movilidad espermática. Estos tiempos son similares comparando muestras oligozoospermicas con muestras no oligozoospermicas así como comparando muestras astenozoospermicas con muestras no astenozoospermicas.

	OLIGO	NO OLIGO	p		ASTENO	NO ASTENO	p
DPN (h)	23,4	24,2	ns	DPN (h)	24,3	23,8	ns
1º DE(h)	26,2	27,2	ns	1º DE(h)	27,1	26,9	ns
2º DE(h)	38,7	39,1	ns	2º DE(h)	39,9	38,5	ns
B (h)	103,6	103,8	ns	B (h)	104,6	103,4	ns

#### CONCLUSIONES:

Al analizar la repercusión de dos parámetros seminales básicos, como son la concentración y la movilidad espermática, y estudiar su influencia en el patrón de división embrionaria, podemos concluir que dichos parámetros no afectan a la cinética de desarrollo de los embriones desde su fecundación hasta la formación del blastocisto.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 302

#### (ESTUDIO DEL POLIMORFISMO C/T EN LA REGIÓN PROMOTORA DEL GEN IL28B MEDIANTE PCR TIEMPO REAL Y CURVAS DE FUSIÓN: DISTRIBUCIÓN EN DE POBLACIÓN NORMAL Y CON HEPATITIS CRÓNICA POR VHC Y ASOCIACIÓN CON LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO ANTIVIRAL

Trabajo de: Biología Molecular.

Autor/a/s: (GERARD M RUIZ SALINAS, MONTERRAT SAEZ LAGO, MONTERRAT GIMFERRER CAMPAJÓ, MARIA HOMS RIBA).

Centro de trabajo: (HOSPITAL VALL D'HEBRON)

Correo electrónico del primer firmante: (gerardmruiz telefonica.net)

#### Antecedentes y Objetivo:

En la infección por el virus de la hepatitis C, el polimorfismo C/T de un solo nucleótido (rs12979860: posición -3176) de la región promotora de la interleuquina 28b, que codifica el Interferón-γ3 (IL28b) muestra que los sujetos con genotipo C/C presentan una mayor probabilidad de respuesta virológica sostenida (RVS) al tratamiento y de resolución espontánea de la infección. En este trabajo se ha estudiado un método sencillo de PCR a tiempo real el polimorfismo C/T en individuos sanos y en pacientes con hepatitis crónica C [HCC] y la asociación de dicho polimorfismo con la RVS al tratamiento antiviral.

#### Pacientes y Métodos:

Se estudiaron muestras de sangre de 154 individuos: 48 controles sanos (75% hombres: edad 52:16-74) y 106 HCC (58.5% hombres: edad 50:26-83, 82% Genotipo 1) de los cuales 33 habían sido tratados con interferón pegilado y ribavirina y 23 de ellos habían conseguido RVS. El genotipo IL28b C/T se determinó en muestras de sangre total, mediante PCR a tiempo real con curvas de fusión (LightMix-Kit IL28B, LighCycler/Roche), en 45 minutos de tiempo total. En 15 individuos sanos se comprobó el genotipo C/T mediante secuenciación.

#### RESULTADOS:

La distribución de los genotipos del polimorfismo IL28b (C/C, C/T y T/T) y su frecuencia alélicas en los diferentes grupos estudiados se muestra en la Tabla. Se observó un porcentaje mas elevado de RVS al tratamiento antiviral en pacientes C/C con tendencia a la significación (p=0,07). Los genotipos determinados mediante secuenciación coincidieron totalmente con los determinados mediante PCR a tiempo real.

Grupo	N	C/C	C/T	T/T	% C	% T	p
Sujetos sanos	48	18 (37.5%)	23 (47.9%)	7 (14.6%)	61.5	38.5	ns
HCC	106	33 (31.1%)	46 (43.4%)	27 (25.5%)	52.8	47.2	
HCC tratados	33	11	16	6	57.6	42.4	
HCC con RVS	23	* 9 (81.8%)	*12 (75 %)	*2 (33.3%)	65.3	34.7	0,07
HCC sin RVS	10	* 2 (18.2%)	* 4 (25 %)	*4 (66.6%)	40	60	

(\*) % calculado respecto a la totalidad del grupo del genotipo correspondiente de HCC tratados

Todas las distribuciones cumplen el equilibrio Hardy-Weinberg (p=ns)

#### CONCLUSIONES:

La metodología de PCR a tiempo real y curvas de fusión permite determinar la distribución de los genotipos con resultados similares a los obtenidos con métodos más complejos. El genotipo C/C muestra una mayor probabilidad de RVS que el genotipo T/T. Este método posibilita la difusión del estudio del polimorfismo de la IL28b y la realización de un tratamiento personalizado.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 311

#### CARACTERIZACIÓN MOLECULAR MEDIANTE SECUENCIACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEÍCOS DE LA INFECCIÓN POR VHB EN NUESTRO MEDIO

Trabajo de: Biología Molecular.

Autor/a/s: Sánchez Álvarez A, Costela López C, Torres Espinola J

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO SAN CECILIO

Provincia: Granada

Correo electrónico del primer firmante: josantsanchez@hotmail.com

#### Introducción:

Existe poca información acerca de las resistencias primarias a análogos de nucleósido/nucleótidos usados en el tratamiento de las infecciones por VHB, de ahí la importancia del estudio de las resistencias en el potencial grupo transmisor (pacientes en tratamiento) y en pacientes naive. Nuestro objetivo ha sido estudiar la prevalencia de la transmisión de resistencias a dichos fármacos en pacientes infectados por VHB en nuestra área geográfica.

#### Material y métodos:

Hemos estudiado las mutaciones de resistencia frente a VHB y el genotipo y subgenotipo en 202 muestras pertenecientes a 157 pacientes llegadas a nuestro centro de referencia entre los años 2006-2010. Las características basales fueron: 65.6% de hombres, edad 40 [32-53] años, la mediana de la carga viral del VHB es de 238000 UI/mL [12166-6000000]. Se analizaron las mutaciones de resistencia frente al VHB y el genotipado usando el equipo de HBV Trugene Genotyping (Siemens). La interpretación de las secuencias se realizó empleando la aplicación informática de Geno2pheno[hbv]. Se determinó el subgenotipo A analizando las posiciones 207 y 209 del gen S. La carga viral se determinó con el equipo de Cobas Taqman (Roche).

#### RESULTADOS:

Se ha detectado la transmisión de resistencias en dos pacientes (2,2%); ambos virus presentan la mutación recombinante V173L. 17.3% de los pacientes tratados muestran mutaciones de resistencia al menos a un fármaco para VHB. El patrón de resistencias en pacientes tratados con lamivudina fue: L180M (n=1); L180M + M204I/V (n=7); V173L + L180M + M204I/V (n=5) y M204I (n=2); patrones de resistencia en pacientes tratados con Adefovir: A181T/V (n=5); N236T (n=5). La distribución de genotipos fue: genotipo D, 70.1% (n=110); subgenotipo A2, 14.6% (n=23); subgenotipo A1, 3.2% (n=5); genotipo E, 5.1% (n=8, todos procedentes del África subsahariana); genotipo C, 3.8% (n=6, procedentes de China); genotipo B, 1.9% (n=3, procedentes de China); genotipo F, 1.3% (n=2). Un paciente infectado con el subgenotipo A2 presenta la mutación de escape G145R.

#### CONCLUSIONES:

La transmisión de cepas resistentes a VHB en la población naive del sur de España es muy baja, solamente se han detectado dos casos con mutaciones compensatorias. El genotipo más prevalente en nuestra área geográfica es el genotipo D. Exceptuando los genotipos D y A, el resto han sido detectados en pacientes procedentes de otros países.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 338

#### DIAGNÓSTICO DE MENINGITIS ASÉPTICA POR TÉCNICAS DE AMPLIFICACIÓN GENÉTICA EN POBLACIÓN ADULTA

Trabajo de: Biología Molecular.

Autor/a/s: Sánchez Quintana, Engracia; Florén-Zabala, Laura; Pirez Rodríguez, Carmen; Santana Muñoz, María del Pino; Almeida Almeida, Juana

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

Provincia: Las Palmas

Correo electrónico del primer firmante: sitasq@hotmail.com

## Objetivos:

Conocer la rentabilidad diagnóstica y la frecuencia de los virus detectados en los casos de meningitis aséptica aguda (MAA) en la población adulta (mayores de 14 años) utilizando técnicas moleculares de amplificación genética.

## PACIENTES Y MÉTODOS.

Se incluyeron en el estudio todos los casos de pacientes inmunocompetentes mayores de 14 años, que acudieron consecutivamente a nuestro hospital, desde enero de 2007 hasta diciembre de 2010, con un cuadro clínico compatible con una MAA. La MAA se definió por la presencia de fiebre y cefalea, acompañada o no de signos meníngeos, con pleocitosis del LCR (>10 células/mm<sup>3</sup>), proteinorraquia y cultivos bacteriológicos negativos.

Se investigaron los siguientes agentes etiológicos: enterovirus y herpesvirus (virus herpes simplex tipos 1 y 2, virus varicela-zóster, citomegalovirus, virus de Epstein-Barr y virus herpes humano tipo 6).

Para la detección de enterovirus se utilizó una técnica comercial de amplificación genética basada en la transcripción (NASBA) (NucliSense EasyQ® Basic Kit -Biomerieux) y para la detección de herpesvirus se utilizó una técnica comercial de amplificación en cadena de la polimerasa (PCR) múltiple (Herplex-Genómica).

Estas pruebas están incluidas en la rutina asistencial no urgente de nuestro laboratorio. De forma general, las técnicas moleculares de amplificación se realizan de lunes a viernes en un tiempo máximo de 24 horas en caso de que el paciente ingresara, excepto en el fin de semana. El tiempo de trabajo técnico para la prueba de amplificación de enterovirus es de 3.5 horas y para la de herpesvirus 8 horas.

Las muestras con detección positiva para enterovirus se remitieron al Laboratorio de Referencia para el tipado mediante amplificación parcial de la región VP1 y secuenciación genética.

## RESULTADOS:

Durante el período de estudio se diagnosticaron 84 casos de MAA de etiología viral, de los que 52 (61,9%) fueron varones, con una edad media de 29,6+/-11,4 años (rango: 14-64). De los 84 casos de MAA, 17 se produjeron en el año 2007, 52 en 2008, 7 en 2009 y 8 en 2010. El 61,9% de los casos se produjo en el año 2008.

Se obtuvo un agente etiológico en 64 (76,2%) casos: 55 (65,5%) enterovirus, 4 (4,8%) VHS-2, 3 (3,6%) VVZ, 1 (1,2%) VHS-1 y 1 (1,2%) VEB. El tiempo medio de los resultados positivos fue de 2,4 +/- 3,5 días (rango: 0-21).

De los 55 casos de enterovirus detectados, se pudieron serotipar 37 (67,3%) y correspondieron a: 14 echovirus 4, 13 echovirus 30, 5 Coxsackie A9, 2 echovirus 6, 2 echovirus 9 y un Coxsackie B3. El echovirus 4 produjo un brote en el año 2008, Coxsackie A9 en 2007 y el echovirus 30 circuló durante todo el período de estudio.

## CONCLUSIONES:

Las pruebas moleculares permitieron el diagnóstico etiológico en el 76,2% de los casos. El enterovirus fue el principal agente etiológico de MAA en la población adulta. La incidencia anual de MAA fue variable, dependiendo de la aparición de brotes epidémicos por diferentes tipos de enterovirus.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 349

## COMPARACIÓN DE DOS EXTRACTORES AUTOMÁTICOS DE ÁCIDOS NUCLEICOS: MAXWELL 16 (PROMEGA) VS. MAGNAPURE LC (ROCHE)

Trabajo de: Genética.

Autor/a/s: Montserrat Hernández-Ruano, Inmaculada Sánchez-Villares, Felicitación García, Alicia Antón, Miguel Alcoceba, Luis Marín, M. Carmen Chillón, María Eugenia Sarasquete, Noemí Puig, Ana Balanzategui, E. Sebastián, Ramón García-Sanz, Marcos González.

Centro de trabajo: Hospital Universitario de Salamanca

Provincia: Salamanca

Correo electrónico del primer firmante: monheru@hotmail.com

## Introducción:

La obtención de ácidos nucleicos con un alto rendimiento y de buena calidad es un primer paso básico en los laboratorios de biología molecular tanto para análisis clínicos como de investigación. El elevado número de muestras que llegan a un laboratorio clínico hace necesario el empleo de sistemas automatizados de extracción de ácidos nucleicos. Debido a la existencia en el mercado de diferentes tecnologías, es fundamental determinar cual es el método que mejor se adapta a cada laboratorio.

## Objetivo:

Comparar el rendimiento y eficacia de dos extractores automáticos de ácidos nucleicos para su empleo en pruebas de biología molecular.

## Material y métodos:

Un total de 15 muestras extraídas en paralelo mediante dos extractores automáticos: Maxwell-16 (Promega Corporation, Madison, WI, EEUU) y MagnaPure LC (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN, EEUU), ambos basados en el uso de partículas magnéticas de sílice.

Se compararon las siguientes variables: 1) Condiciones iniciales: volumen de muestra, número de leucocitos; 2) Rendimiento: volumen obtenido, concentración de la muestra, calidad del ADN; 3) Otras valoraciones del procedimiento: número de muestras por

proceso, tiempo por muestra, optimización del proceso.

La concentración de las muestras se midió mediante el espectrofotómetro Nanodrop ND-1000 (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, EEUU). La calidad de las muestras se evaluó mediante la amplificación por PCR de 4 genes control, según la metodología empleada en los estudios del grupo BIOMED-2, previamente descrita (van Dongen, Leukemia, 2003).

## RESULTADOS:

Se obtuvo material genético en 14 (93%) muestras con Maxwell-16 y 12 (80%) con MagnaPure LC. En una muestra no pudo obtenerse ADN con ninguno de los dos métodos. Dos muestras que fallaron por el método de MagnaPure LC se debió a problemas en la fase de homogenización por pipeteo, mientras que el método de homogeneización por émbolo del Maxwell-16 demostró ser más eficaz. Estas tres muestras se excluyen de las cuantificaciones posteriores.

El rango inferior de leucocitos de partida en ambos métodos es similar, sin embargo, la metodología Maxwell-16 permite un margen superior más amplio (3000-15000 vs. 3000-10000), requiriendo en cambio mayor volumen de sangre total (400 µl vs. 200 µl). Sin embargo, se obtiene un mayor volumen final con el Maxwell-16 (300 µl vs. 100 µl), presentando además una mayor concentración de las muestras (media 76 ng/µl, rango 34-266 con Maxwell-16 vs. 34 ng/µl, rango 14-92 del MagnaPure LC), obteniendo por tanto una cantidad absoluta final de ADN mayor (media 23 µg, rango 10-80 con Maxwell-16 vs. 3.4 µg, rango 1.4-9 del MagnaPure LC).

La calidad de las muestras es adecuada por ambos métodos, observándose la amplificación de los 4 fragmentos control en todas las muestras con concentraciones superiores a 10 ng. La calidad del ADN medida por los ratios 260/280 y 260/230 es similar por ambos métodos. Por último, Maxwell 16 emplea 30 minutos para un procesamiento máximo de 16 muestras, mientras que MagnaPure LC emplea 2 horas y 30 minutos para un máximo de 32 muestras.

## Conclusión:

La calidad del ADN obtenido por las plataformas Maxwell-16 y MagnaPure LC es similar. Sin embargo, la plataforma Maxwell-16 presenta varias ventajas: permite el empleo de muestras más concentradas, mejora la homogenización de muestras y presenta un mayor rendimiento. Además el tiempo de procesamiento es menor lo que permite una mayor optimización de los recursos. Por el contrario, la plataforma MagnaPure LC permite procesar mayor número de muestras. (32 vs 16).

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 379

## ANÁLISIS DE LOS GENES IMPLICADOS EN LA RUTA DE REPARACIÓN DEL DNA POR ESCISIÓN DE BASES (BER) COMO MODIFICADORES DEL RIESGO DE CÁNCER DE MAMA EN PORTADORAS DE MUTACIONES EN LOS GENES BRCA1 Y BRCA2.

Trabajo de: Genética.

Autor/a/s: Alicia Barroso, Fernando Fernández, Samuel Domingo, Rosario Alonso, Belén Herráez, Nuria Álvarez, María Lacruz, Fátima Mercadillo, Victoria Fernández, Álvaro Gómez, Javier Benítez, Ana Osorio.

Centro de trabajo: Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas

Provincia: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: abarroso@cni.es

## RESUMEN:

Entre un 5-10% de los casos de cáncer de mama se considera de tipo hereditario y atribuible a mutaciones heredadas en varios genes de susceptibilidad. Hasta el momento solamente se han identificado dos genes de alta penetrancia implicados en el cáncer de mama/ovario hereditario, BRCA1 y BRCA2. Las mutaciones germinales en estos genes confieren alto riesgo para el desarrollo de cáncer de mama y cáncer de ovario, sin embargo, las estimaciones del riesgo son altamente variables dependiendo de la población y el grupo de pacientes estudiado (entre 40-85% para cáncer de mama según diferentes estudios). La variabilidad en la penetrancia y expresividad de la enfermedad llega incluso al nivel intrafamiliar, observándose diferencias en cuanto a la edad de diagnóstico del tumor, tipo de tumor desarrollado, etc, en individuos de una misma familia portadores de una misma mutación. Todo esto pone de evidencia la existencia de otros factores genéticos modificadores del fenotipo en estos pacientes.

Dado que BRCA1 y BRCA2 participan en la reparación de roturas de doble cadena en el ADN mediante Recombinación Homóloga (HR), los polimorfismos de cambio de un solo nucleótido (SNPs Single Nucleotide Polymorphisms) en otros genes también implicados en la reparación del ADN son buenos candidatos como modificadores potenciales del fenotipo. La ruta de reparación por escisión de bases (BER), es particularmente interesante, dado existe una relación de letalidad sintética entre uno de sus componentes, PARP1 y BRCA1/2. En ausencia de PARP-1, estas roturas de cadena sencilla no se resuelven correctamente, derivando finalmente en roturas de ADN de cadena doble que tienen que ser reparadas por el mecanismo de HR. Si en esta situación, el mecanismo de HR también es deficiente debido a la pérdida de función de BRCA1 o BRCA2, esto causaría la persistencia de roturas de cadena doble, dando lugar a la parada del ciclo celular o incluso la muerte de la célula.

Para comprobar esta hipótesis, hemos realizado un análisis exhaustivo de 18 genes implicados en la ruta BER, en una serie de 1800 portadoras de mutaciones en los genes BRCA1/2. Hemos evaluado 144 SNPs utilizando la técnica VeraCode GoldenGate. En el análisis preliminar, 46 SNPs mostraron una asociación estadísticamente significativa con el riesgo de cáncer de mama ( $p < 0.05$ ) para BRCA1 y/o BRCA2. En el presente estudio presentamos los análisis genéticos adicionales que se están realizando para validar los resultados más significativos ( $p < 10^{-3}$ ).

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 381

### **“DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LOS SÍNDROMES MIELOPROLIFERATIVOS CRÓNICOS: POLICITEMIA VERA (DETERMINACIÓN DE LA MUTACIÓN V617F DEL GEN JAK2), Y LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA (DETERMINACIÓN DE LA TRANSLOCACIÓN DEL GEN BCR-ABL)”**

*Trabajo de:* Biología Molecular.

*Autor/a/s:* Catarina de Aguiar Saraiva Ribeiro Rua; Tânia Filipa Colaço dos Santos; Elisa Susana Ramírez Mendoza; M<sup>a</sup> Victoria Olabarría; Mónica Herrera Quintana

*Centro de trabajo:* Laboratorio Unilabs - Madrid.

*Correo electrónico del primer firmante:* catarina\_rua\_@hotmail.com

#### **Introducción:**

El término Síndrome Mieloproliferativo Crónico (SMC) describe un grupo de patologías (neoplasias hematológicas) que tienen como característica común la proliferación descontrolada de uno o más componentes hematopoyéticos de la médula ósea y en muchos casos del bazo y del hígado. Dentro de los SMC, los más comunes son: Policitemia Vera (PV), Leucemia Mieloide Crónica (LMC), Mielofibrosis y Trombocitemia Esencial (TE). En España, existen 1,5 nuevos casos por año de SMC/100.000 habitantes, siendo más frecuente en personas a partir de los 45 años de edad.

#### **Objetivos:**

El presente trabajo incidirá en la Policitemia Vera y la Leucemia Mieloide Crónica, teniendo como objetivos principal el diagnóstico molecular de estas patologías y su seguimiento, basándonos en la determinación de la mutación V617F del gen Jak2, y la translocación del gen BCR-ABL que daría lugar a las proteínas p210 o p190.

#### **Materiales y métodos:**

- Muestras de pacientes recibidas en el Departamento de Biología Molecular durante el año 2010
- Determinación de la mutación V617F del gen Jak2: Extracción de DNA; PCR-Alelo específica (Termociclador Convencional) y Electroforesis en gel de agarosa para análisis de las bandas
- Determinación por PCR en tiempo real de transcritos BCR-ABL: Extracción de RNA; Obtención de cDNA mediante la transcripción reversa y PCR cuantitativa a tiempo real (LightCycler® de Roche)

#### **RESULTADOS:**

Para la mutación V617F del gen Jak2, se estudiaron 186 pacientes, de los cuales 41 han sido positivos para dicha mutación y 145 negativos.

Para la detección y cuantificación del reordenamiento BCR-ABL se estudiaron:

- BCR-ABL p210: 150 muestras de las cuales 66 fueron positivas y las restantes 84 fueron negativas.
- BCR-ABL p190: 125 muestras, las cuales fueron todas negativas.

Se ha realizado un estudio estadístico de los síntomas clínicos observados por el médico, los resultados obtenidos en el diagnóstico de SMC y otros aspectos clínicos

#### **Conclusión**

La tecnología utilizada para el diagnóstico de estos síndromes está en constante evolución, así como el continuo desarrollo de nuevas determinaciones que sirvan de apoyo al mismo. Gracias a la determinación de la mutación V617F del gen Jak2, y del reordenamiento BCR-ABL, en conjunto con los síntomas observados por el clínico, se consigue un mejor diagnóstico y seguimiento de los pacientes, lo cual es fundamental para la aplicación de un tratamiento eficaz.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 403

### **LAS MUTACIONES EN EL GEN RAD51C SON RESPONSABLES DE AL MENOS EL 1% DE LOS CASOS DE CÁNCER DE MAMA Y OVARIO FAMILIAR EN ESPAÑA.**

*Trabajo de:* Genética.

*Autor/a/s:* Fernando Fernández, Alicia Barroso, Victoria Fernández, Samuel Domingo, Fátima Mercadillo, Rocío Letón, Ana Osorio, Javier Benítez.

*Centro de trabajo:* Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas

*Correo electrónico del primer firmante:* ffernandez@cni.es

#### **RESUMEN:**

BRCA1 y BRCA2/FANCD1 son los dos genes cuya implicación en el síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario está mejor establecida. Sin embargo, menos del 25% de los casos se explican por mutaciones germinales en heterocigosis en los genes BRCA. Mutaciones en otros genes como TP53 y PTEN se han asociado con alto riesgo para el desarrollo de cáncer de mama dentro de otros síndromes de cáncer hereditario, pero hasta ahora no se han identificado otros genes de alta penetrancia implicados específicamente en el de mama y ovario, lo que ha llevado a la hipótesis del modelo poligénico como subyacente al exceso de riesgo familiar. En los últimos años, se han descrito variantes raras en genes implicados en la reparación del ADN, que confieren riesgo moderado para cáncer de mama, entre los que se incluyen algunos de los genes de Anemia de Fanconi, como BRIP1/FANCD1 y PALB2/FANCD1. Las mutaciones bi-alelicas en estos genes se asocian con un fenotipo de Anemia de Fanconi, mientras que cuando aparecen en heterocigosis, confieren un riesgo relativo de dos veces aproximadamente para el desarrollo de cáncer de mama. Aunque el descubrimiento de estas variantes está ayudando a comprender el modelo genético, su aplicación a la práctica clínica no es todavía posible, dada la dificultad para interpretar los riesgos (bajos o moderados) y la variabilidad que existe entre las distintas poblaciones. Por lo tanto el análisis de mutaciones en BRCA1/2 es todavía el único test genético que se puede ofrecer en estos casos.

Esta situación podría cambiar tras el descubrimiento en Abril de 2010 de un nuevo gen de Anemia de Fanconi, RAD51C, cuyas mutaciones en heterocigosis parecen conferir alto riesgo para cáncer de mama y ovario. El estudio original se realizó en una serie alemana de aproximadamente 1000 casos de cáncer de mama familiar no asociados a mutaciones en BRCA1 y BRCA2, encontrándose mutaciones germinales en RAD51C en el 1,3% de las familias que presentaban cáncer de mama y ovario. Si estos resultados se confirman, podríamos encontrarlos ante el tercer gen de susceptibilidad para cáncer de mama y ovario hereditario después de 15 años.

En el presente estudio hemos realizado el análisis molecular de RAD51C en una serie seleccionada de 200 familias españolas con cáncer de mama y ovario no asociadas a mutaciones en los genes BRCA1/2. El estudio se realizó mediante amplificación por PCR, análisis por DHPLC y secuenciación de los 9 exones codificantes y uniones exón-intrón del gen RAD51C. Se han identificado al menos dos mutaciones deletéreas en RAD51C en dos familias independientes (c.404G>A; p.Cys135Tyr y c.414G>C; p.Leu138Phe) lo que supone un porcentaje similar al reportado en el trabajo original (1%). Nuestros resultados sugieren que el test genético de RAD51C podrá ser pronto trasladado a la práctica clínica para el análisis de familias con cáncer de mama y ovario sin mutación en BRCA1 y BRCA2.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 405

### **ANÁLISIS DE LA RESPUESTA IN VITRO A TRABECTEDINA EN LINEAS CELULARES DE CANCER DE MAMA.**

*Trabajo de:* Genética.

*Autor/a/s:* Maria Victoria Fernández de Gabriel(1), Fernando Fernández(1), Alicia Barroso(1), Fátima Mercadillo(1), Juan Carlos Tercero(2), Javier Benítez(1), María Jose García(1).

*Centro de trabajo:* (1)Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas;(2)PharmaMAR S.A.U

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* vfernandez@cni.es

#### **RESUMEN:**

El cáncer de mama es una enfermedad compleja y heterogénea y una de las causas más frecuentes de muerte asociadas con cáncer en los países desarrollados. Gracias a tecnologías aplicadas en los últimos años los tumores de mama han podido ser clasificados en distintos subtipos moleculares. Las neoplasias triple negativas o de subtipo basal se caracterizan por una mayor agresividad y actualmente suponen un reto clínico debido a la ausencia de terapias específicas y eficientes. Las características clínicas e histopatológicas de estos tumores son similares a las de los tumores hereditarios BRCA1 (desarrollados en mujeres portadoras de mutaciones en el gen BRCA1). La Trabectedina (Ecteinascidina, E-743 o Yondelis) es un compuesto marino que presenta actividad antitumoral cuyo uso está aprobado en Europa y otros países para el tratamiento de sarcomas avanzados y en el cáncer de ovario. Se ha descrito una mayor eficiencia relacionada con ausencia o baja expresión del gen BRCA1 y alta expresión de genes del sistema de reparación NER.

El objetivo de este trabajo fue la caracterización de la respuesta a Trabectedina y de su efecto en el ciclo celular en líneas celulares de cáncer de mama esporádico y familiar.

#### **Material y métodos:**

Con este fin se reunió un panel de 10 líneas celulares de cáncer de mama: 7 procedentes de carcinomas de mama esporádicos sin alteraciones descritas en el gen BRCA1 (MCF7, MDA-MB 231, MDA-MB 157, Hs578T, T47D, SKBr3, BT474), 2 de pacientes portadoras de mutaciones germinales en el gen BRCA1 (MDA-MB 436 y HCC1937) y una con inactivación somática del gen BRCA1 (UACC3199).

La caracterización de la sensibilidad a Trabectedina en las líneas celulares de mama se determinó con un ensayo colorimétrico estándar MTT basado en la reducción metabólica del Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol (MTT) de color amarillo a

un compuesto insoluble de color azul o formazán. La reducción solamente tiene lugar cuando las enzimas reductasas mitocondriales son activas y por lo tanto dicha conversión puede relacionarse directamente con el número de células viables. Este ensayo se utiliza para medir la supervivencia y proliferación celular, siendo la cantidad de células vivas proporcionales a la cantidad de formazán producido. Las células en crecimiento exponencial se plaquearon en placas de 96 pocillos y se sometieron a concentraciones seriadas de Trabectedina partiendo de una concentración inicial de 100nM. Cada concentración se evaluó en triplicado y en cuatro experimentos diferentes. Tras exponer las células a Trabectedina durante 96 horas se incubaron con MTT, se añadió DMSO para solubilizar el formazán y se midió la absorbancia con un lector automático (Bio-Rad). El efecto citotóxico se determinó en cada célula mediante los valores de IC50 (concentración de la droga en que se observa un 50% de supervivencia celular comparada con un control de células sin tratar). Para caracterizar el efecto del tratamiento con Trabectedina en el ciclo celular las líneas se incubaron con Trabectedina (0.6nM) durante 24, 48 y 56h. En dichos intervalos se recogieron las células, se fijaron y se incubaron con PI (contenido de ADN) y con el anticuerpo anti histona H3 (valoración del índice mitótico). El contenido en ADN y la fluorescencia se analizaron mediante citometría de flujo utilizando el software Cell Quest.

#### RESULTADOS: y CONCLUSIONES:

Todas las líneas celulares de cáncer de mama analizadas fueron altamente sensibles al tratamiento con Trabectedina. Esta sensibilidad se observó tanto en células con BRCA1 funcional como aquellas con pérdida de la función del mismo. El principal efecto del tratamiento fue inhibición del crecimiento con parada en G2-M seguida de apoptosis. Este análisis sugiere que la trabectedina pueda ser empleada no solo en el tratamiento de sarcomas avanzados sino también en el tratamiento del cáncer de mama. Este trabajo ha sido financiado en colaboración con la empresa PharmaMar.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 424

#### FARMACOGENETICA EN CANCER DE MAMA: ANALISIS DE POLIMORFISMO MEDIANTE LA TECNOLOGIA VERACODE PARA LA BUSQUEDA DE PREDICTORES DE RESPUESTA TERAPEUTICA

Trabajo de: Genética.

Autor/a/s: Lacruz Polo María ;Herráez Crespo, Belen; D Caronia; N Alvarez; TL Moreno; MR Alonso; G Pita; J De la Torre; M Martin; JA García-Saenz;; A Gonzalez-Neira ;J Benítez.

Centro de trabajo: Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas

Provincia: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: mlacruz@cni.es

#### INTRODUCCION:

Los polimorfismos de un solo nucleótido ó SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) son variaciones en la secuencia de ADN que afecta a un nucleótido. Son el tipo de variación más frecuente en el genoma humano pudiéndose encontrar un SNP cada 1000 bases en promedio, a lo largo del genoma humano.

#### Objetivos:

La existencia de este tipo de variaciones en los genes relacionados tanto con la farmacocinética y farmacodinámica de los fármacos podrían explicar la diferencias interindividuales de la respuesta al tratamiento. En concreto en la Unidad de Genotipado Humano- CEGEN del CNIO hemos llevado a cabo el análisis de SNPs en los genes involucrados en el transporte y metabolismo de los fármacos docetaxel y adriamicina para la identificación de SNPs asociados a respuesta a tratamiento.

#### MATERIAL Y METODOS:

Se estudiaron un total de 262 SNPs mediante la tecnología GoldenGate con el equipo de Illumina VeraCode (BeadXpress) en un total de 97 pacientes con cáncer de mama tratadas con adriamicina y 85 tratadas con docetaxel.

El protocolo se basa en una reacción de discriminación alélica, reacción de extensión y posterior multiplex PCR con cebadores universales. Los productos de PCR son hibridados por cristales codificados en suspensión, los cuales son detectados mediante un scanner.

#### RESULTADOS:

Los datos fueron analizados con Genomestudio y los genotipos fueron asociados con los datos clínicos de respuesta al tratamiento.

Los resultados preliminares parecen demostrar que un SNP estaría asociado a la respuesta docetaxel y otro SNP con respuesta adriamicina.

#### CONCLUSIONES:

La identificación de predictores de respuesta ayudará a la personalización del tratamiento de las pacientes con cáncer de mama de acuerdo a su componente genético.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 428

#### ESTUDIO BASADO EN LA TECNICA DE FISH EN CANCER DE VEJIGA

Trabajo de: Genética.

Autor/a/s: Hernández García María Angeles, Crego Martín Amador, Sánchez Mateos C.

Beatriz, Fierro de la Fuente Miriam, Rivas Amoedo Rosa Ana.

Centro de trabajo: Complejo Asistencial de Salamanca

Correo electrónico del primer firmante: mahernandez@iecscyl.com

#### Introducción:

El cáncer de vejiga es el segundo en frecuencia de los tumores urogenitales del varón, siguiendo al cáncer de próstata. Si bien existe prevalencia del sexo masculino (2,7:1) En el 90% de los casos se trata de cáncer de células transicionales( TCC). Dada la elevada tasa de recidivas, resulta crucial el seguimiento exhaustivo de estos pacientes. La cistoscopia y la confirmación histológica en el material biopsiado son los métodos de elección para el diagnóstico y el seguimiento de los TCC, aunque se trata de pruebas invasivas, laboriosas y de elevado coste.

La incorporación de métodos no invasivos, como es el estudio de alteraciones genómicas mediante Hibridación in situ fluorescente en orina, permitirán un mayor seguimiento de los pacientes.

#### Objetivo:

Evaluar la realización de la FISH en muestras de orina o lavados vesicales en pacientes prosoos benignos o con diagnóstico de cáncer de vejiga. Analizar la sensibilidad de la hibridación in situ fluorescente (FISH) en 28 casos de pacientes diagnosticados de TCC.

#### Material y métodos:

La muestra procede de 76 muestras procedentes de micción espontánea o lavado vesical. En todos los casos se ha realizado el estudio de FISH mediante el Kit de UroVysion Bladder diseñado para la detección de aneuploidías de los cromosomas 3, 7 y 17 y pérdida del locus 9p21. Para el conteo se seleccionan núcleos con características morfológicas tumorales,(tamaño superior al resto de las células epiteliales, irregularidad morfológica y cromatida granulada); Los criterios de positividad son: muestra :  $\geq 4$  de las 25 células con ganancia, más de dos copias, de 2 o más cromosomas (3, 7 o 17) en la misma célula, o  $\geq 12$  de las 25 células no presentan ninguna señal de 9p21.

#### Resultado

De las 76 muestras 13 de ellas son positivas (18%) presentaban positividad mediante FISH.

1.-10 casos de los 13 positivos (77%) presenta polisomías de los cromosomas 3, 7 y 17 – 9 casos presenta polisomía de los cromosomas 3, 7 y 17 (90%)

– 1 caso presenta polisomía de los cromosomas 3 y 17 (10%)

2.-3 casos de los 13 positivos (23%) presenta trisomías de los cromosomas 3, 7 y 17

– 1 caso presenta trisomía de los cromosomas 3, 7 y 17 (33%)

– 2 caso presenta trisomía de los cromosomas 7 y 17 (66%)

Hay 5 casos con pérdida del 9p21 (38.5%), de los cuales 4 casos (80%) son homocigóticos y 1 solo caso es heterocigótico (20%)

De los 28 casos que presentan (TCC) 5 cumplían los criterios de FISH positiva (18%). De los 16 casos de TCC (GII-GIII grado) 3 reunían criterios de positividad.

#### Conclusión

La naturaleza no invasiva de este ensayo, muestra la viabilidad de esta técnica para el diagnóstico de tumores de vejiga tanto en diagnóstico como en recurrencias y progresiones. La aberración cromosómica más frecuente es la polisomía de los cromosomas 3, 7 y 17. La FISH es una herramienta diagnóstica mejor en grado II-III TCC que en grado I.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 432

#### INMUNOFENOTIPO Y CITOGENÉTICA MOLECULAR EN EL DIAGNÓSTICO DE UNA SERIE LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA.

Trabajo de: Genética

Autor/a/s: MUÑOZ SANJUAN MARÍA ISABEL, MELERO RÚIZ JOSEFA, GONZALEZ VERA MARÍA ISABEL, CASAS BOVER DOLORES, VALLCORBA-GOMEZ ISABEL.

Centro de trabajo: SERVICIO DE INMUNOLOGÍA Y GENETICA.HOSPITAL INFANTA CRISTINA.BADAJOS

Correo electrónico del primer firmante: mamusa5@hotmail.com

#### Introducción:

La leucemia linfática crónica (LLC) es la leucemia más frecuente en la población adulta y se caracteriza por la proliferación clonal de un linfocito B maduro CD5+. Su curso clínico es muy variable, en algunos pacientes la enfermedad permanece estable durante años sin requerir tratamiento, y otros manifiestan un curso más agresivo. Este comportamiento tan dispar puede estar relacionado con la marcada heterogeneidad biológica de la LLC.

#### Material y métodos:

Se han analizado 43 muestras de pacientes con edades comprendidas entre 44-96 años (media 62), incidencia por sexo prácticamente la misma (ratio hombre: mujer 1,2) procedentes de los servicios de hematología de las áreas sanitarias de: Badajoz (29), Mérida (4), Don Benito-Villanueva (9) y Llerena (1). Los diagnósticos de presunción fueron de leucemia linfática crónica (28), síndrome linfoproliferativo crónico (5), linfocitosis (2) y sin diagnóstico (8).

Se realiza estudio inmunofenotípico de sangre periférica anticoagulada con EDTA. Se incubaba la muestra con una batería de anticuerpos monoclonales (AcMo) marcados con una combinación de 4 fluorocromos (FITC, Pe, PerCpCy5.5, APC). Se estudia la expresión en

superficie de los siguientes marcadores: CD45, CD19, CD5, CD43, CD23, CD20, CD22, CD79b, FMC7, CD38, CD10, cadenas ligeras Kappa y Lambda así como la expresión intracitoplasmática de ZAP70. El método utilizado para marcar incluye lisado y lavado de la muestra. Las muestras se adquieren en un citómetro de flujo FACSCalibur (Becton-Dickinson) con el programa CellQuest-Pro y se analizan con el programa Paint-a-gate. Se realiza también estudio de Hibridación In Situ Fluorescente (FISH) utilizando sondas específicas para las regiones 6q23(MYB), 11q22.32 (ATM), Centrómero 12 (DZ12Z1), 13q14.3 (D13S319), 13q34 (LAMP1), 17p13.1 (P53). El estudio se realiza en células sin cultivar procedentes de sangre periférica heparinizada según protocolo estándar.

## RESULTADOS:

De las 43 muestras estudiadas:

- 38 muestras presentan un fenotipo de LLC típica (88,37%):
  - 26 (68,4%) presentan alteraciones por FISH únicas (80,8%) o asociadas (19,2%):
    - 15 con delección 13q14 (57,7%). Todas son CD38-, 9 ZAP70-, 4 ZAP70+, en 2 no se determina ZAP70.
    - 3 con trisomía 12 (11,54%). Dos son CD38+ y ZAP70+ y una es CD38- y ZAP70-.
    - 2 con delección 17p13 (P53) (7,7%). Una es CD38- y ZAP70- y la otra es CD38+ y ZAP70+.
    - 1 con delección 11q22 (3,84%), CD38+, ZAP70+.
    - 3 con delección 11q22+13q14 (11,54%). Las 3 son ZAP70-, 2 son CD38+ y una CD38-.
    - 1 trisomía 12+ delección 13q14 (3,84%), CD38-, ZAP70-.
    - 1 trisomía 12+ delección 11q22 (3,84%). CD38-, No se determina ZAP70.
  - 12 sin alteraciones (31,6%), 9 son CD38-, 3 son CD38+, 6 ZAP70- y 6 ZAP70+.
- 5 muestras presentan un fenotipo de LLC atípica (11,63%):
  - 1 (20%) presenta alteraciones por FISH: Trisomía 12, esta es CD38+, ZAP70-.
  - 4 (80%) sin alteraciones: 3 son CD38- y 1 CD38+; 2 ZAP70- y 2 no se determina.

## CONCLUSIÓN

La frecuencia de las alteraciones citogenéticas moleculares estudiadas asociadas a LLC-B es mucho mayor entre los casos que presentan fenotipo de LLC típica.

La alteración más frecuente detectada por FISH, es la delección 13q14. En el grupo que mostraba esta alteración, asociada a buen pronóstico, la frecuencia de marcadores inmunofenotípicos de buen pronóstico es muy alta, el 100% son CD38- y el 73.3 % son ZAP70 negativos.

Del grupo que presentaba la alteración trisomía 12, la frecuencia de marcadores inmunofenotípicos de mal pronóstico es alta, el 66,6% son CD38+ y ZAP70+.

Una estrecha colaboración entre los distintos profesionales, permite un abordaje multidisciplinar de esta patología, mejorando el manejo de los pacientes.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 445

### ADAPTACIÓN DE UN PROTOCOLO PARA DETERMINAR LA LONGITUD DE TELÓMEROS DE CÉLULAS EN SUSPENSIÓN A CÉLULAS CON CRECIMIENTO ADHERIDO.

*Trabajo de:* Biología Molecular.

*Autor/a/s:* GÓMEZ RAMÍREZ, RAQUEL; AROCA SIENDONES, MARÍA INÉS; BARBERÁN ACEITUNO, CRISTINA; AYALA MOSCOSO, BENILDE; VENTURA GÓMEZ, CARMEN; SÁEZ CASTILLO, ANA ISABEL; SÁNCHEZ LÓPEZ, ANA MARÍA.

*Centro de trabajo:* RED DE BANCOS DE TUMORES DE ANDALUCÍA

*Provincia:* GRANADA

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

## RESUMEN:

Los telómeros son una estructura de ADN constituida por repeticiones de nucleótidos, que protege el extremo de los cromosomas humanos, proporcionan estabilidad e impiden la desorganización del mismo. Se han identificado como un elemento crucial en el envejecimiento y en varias enfermedades.

En ese marco se han desarrollado diferentes técnicas de análisis de la longitud telomérica (Lin and Yan, 2005). Entre ellas, una denominada 78 flow FISH (Baerlocher et al., 2006.), hace posible identificar la longitud de los telómeros sin necesidad de que las células se encuentren en metafase y de una forma relativamente rápida y sencilla. Este método determina la longitud relativa de los telómeros mediante la hibridación in situ fluorescente (FISH), analizando posteriormente las células marcadas mediante citometría de flujo.

La no necesidad de células en metafase y su rapidez hacia muy atractivo este sistema para la determinación de la longitud de telómeros en las líneas celulares mínimamente pasadas. En este tipo de líneas, por su double-time elevado, hace especialmente difícil obtener un gran número de células en metafases. Por ello, la adaptación de esta metodología, inicialmente descrita para células en suspensión, sería muy útil para este tipo de líneas y otras líneas que crecen adheridas.

## Material y métodos:

Se utilizaron 26 líneas celulares mínimamente pasadas con crecimiento adherente. Para realizar la determinación de la longitud de los telómeros mediante la técnica 78 Flow-FISH, se utilizó el kit comercial 78 Telomere PNA Kit/FIT de Dako®.

Se probaron diferentes concentraciones de tripsina /EDTA para conseguir levantar y disgregar las células, además de la resuspensión manual de las mismas. Posteriormente, el mayor reto era la disociación de las colonias que forman este tipo de líneas con el objetivo de obtener una suspensión celular útil para analizar por citometría y que no se disocien con tripsina. Para ello se probaron varias concentraciones de colagenasa hasta conseguir la concentración adecuada que permitiese disociar las colonias sin dañar las células.

El cálculo de la longitud de los telómeros se realizó de forma relativa respecto a una línea control, la 1301, que tiene una longitud de telómeros conocida de 25kb (Chakraborty, et al., 2009). Los resultados se han expresado en porcentaje relativo al tamaño de la línea control. A mayor porcentaje, mayor longitud telomérica.

## RESULTADOS:

La obtención de células aisladas y útiles para citometría se consiguió con el siguiente método: 1) levantar las células con una concentración de tripsina/EDTA de 0,25% durante 5 minutos, 2) disgregación de las colonias con una solución de colagenasa de 220 u/mg en HBSS a 37°C durante 1 hora y 3) filtración de las células a través de un filtro de jeringa de 70µm. Con esta metodología se consiguió obtener una suspensión apta para citometría en el 92% de las líneas celulares mínimamente pasadas en las que se quiso determinar este parámetro.

## Conclusión

La adaptación de esta metodología permite determinar la longitud de los telómeros en líneas celulares con crecimiento adherente y donde la obtención de células en metafase es complicada, haciéndolo especialmente útil en líneas celulares mínimamente pasadas las cuales poseen un double-time elevado.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 446

### PREDICCIÓN DEL SÍNDROME DE GILBERT MEDIANTE EL POLIMORFISMO UGT1A1\*28

*Trabajo de:* Genética.

*Autor/a/s:* Román M., Cabaleiro T., Ochoa MD., Talegón M, Abad-Santos F.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario de La Princesa

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* manuel.roman@salud.madrid.org

## Introducción:

El síndrome de Gilbert (SG) es una alteración crónica caracterizada por una hiperbilirubinemia leve, no conjugada y no hemolítica. El principal síntoma del SG es la aparición de ictericia leve, principalmente en relación con el estrés, esfuerzo, enfermedad o ayuno prolongado. El SG está causado por alteraciones en la UDP-glucuronosiltransferasa (UGT1A1). El polimorfismo más común de esta enzima es el UGT1A1\*28, consiste en la inserción de una secuencia TA en la región promotora del gen. Los pacientes homocigotos presentan hasta un 70% de reducción en la actividad transcripcional del gen UGT1A1. El objetivo principal de este trabajo es comparar los niveles de bilirrubina total, así como las enzimas hepáticas (ASAT, ALAT, Fosfatasa alcalina, GGT y LDH) con los genotipos de las enzimas metabólicas de fase II (UGT1A1, GSTM1, GSTM3, GSTP1, GSTT1, NAT2 y TPMT) en voluntarios sanos que acuden a la unidad de ensayos clínicos en el Hospital de La Princesa.

## Material y métodos:

Para la determinación de los genotipos de las enzimas metabolizadoras de fase II se recogieron muestras de sangre de 168 voluntarios sanos (85 hombres y 83 mujeres) todos ellos firmaron el consentimiento informado. Se extrajo el DNA mediante extractor automático (Magna Pure de Roche®). La determinación de cada uno de los polimorfismos se llevó a cabo mediante un chip de genotipado comercial (PHARMAchip®, Progenika), que permite la determinación de 90 polimorfismos (SNPs) y polimorfismos de longitud de enzimas de fase I (citocromo p450) y enzimas de fase II, así como transportadores de fármacos y receptores y transportadores de neurotransmisores. Para cada muestra a analizar se prepararon 7 reacciones de PCR independientes. Después los productos amplificados se mezclaron y se fragmentaron con lo que se obtienen fragmentos con tamaños menores de 50 nucleótidos. Estos fragmentos se marcan con biotina y se añaden a un tampón de hibridación al que además se añade una solución de oligonucleótidos biotinilados que sirven como control de hibridación. Posteriormente, esta solución se hibridó con sondas alelo-específicas complementarias a las secuencias a analizar, impresas en un portaobjetos de vidrio (chip), y se reveló con un colorante fluorescente (Cy3) conjugado con estreptavidina. Finalmente el chip fue escaneado en un InnoScan® 700 Microarray Scanner (Innopsys) y los datos de intensidad traducidos a los genotipos correspondientes a cada gen mediante el uso del software desarrollado por Progenika. El análisis de los polimorfismos de longitud (VNTRs) fue realizado fuera del chip mediante una reacción de PCR múltiple en la que se mezclan los cebadores marcados con fluorescencia (FAM) y que flanqueaban toda la región de interés del UGT1A1. Los tamaños de los amplicones se analizaron mediante un análisis de fragmentos en un secuenciador automático (3100 Genetic Analyzer; Applied Biosystems). Las determinaciones bioquímicas de los voluntarios se obtuvieron mediante las analíticas de reclutamiento de cinco ensayos clínicos que se realizaron en la unidad de ensayos clínicos del Hospital Universitario de La Princesa. El análisis estadístico de los resultados se analizó mediante SPSS v 15.0.

## RESULTADOS:

Un 94% de los voluntarios (n=158) tenían niveles de bilirrubina normales ( $M \pm DS$   $0.66 \pm 0.25$ ) y un 6% (n=10) tenían bilirrubinas altas compatibles con Síndrome de Gilbert ( $M \pm DS$   $1.58 \pm 0.30$ ). No encontramos diferencias entre las medias de concentración de bilirrubina entre hombres y mujeres, 0.76 mg/dl y 0.66 mg/dl respectivamente. Un total de 77 sujetos presentaban la variante \*1/\*1 de UGT1A1 (45.8%), 82 voluntarios la variante \*1/\*28 (48.8%) y 9 voluntarios la variante \*28/\*28 (5.4%). Los voluntarios con genotipo \*28/\*28 tienen una mayor concentración de bilirrubina total en sangre ( $1.24 \pm 0.52$  mg/dl) con respecto a los que tienen el genotipo \*1/\*1 ( $0.63 \pm 0.24$  mg/dl) ( $p \leq 0.001$ ) así como con los heterocigotos \*1/\*28 ( $0.73 \pm 0.33$  mg/dl) ( $p \leq 0.001$ ). Los pacientes con esta mutación no tienen alteraciones de las enzimas analizadas. No hay ninguna relación de los polimorfismos de las otras enzimas de fase II con la elevación de bilirrubina u otros parámetros.

## CONCLUSIONES:

De los parámetros analizados solo obtuvimos una relación entre los niveles de bilirrubina total y el gen UGT1A1 y no con el resto de los genes analizados. Los voluntarios con la bilirrubina total alta son homocigotos para la mutación UGT1A1\*28, mientras que los individuos heterocigotos para dicha mutación solo presentan niveles altos de bilirrubina en algunos casos. La elevación de bilirrubina total no se asocia a ninguno de los polimorfismos estudiados de las demás enzimas metabolizadoras de fase II. Los sujetos que presenten esta mutación no van a tener ninguna manifestación clínica importante salvo que en un futuro necesiten ser tratados con irinotecan (fármaco empleado para el tratamiento de cáncer de colon), en cuyo caso está descrito en otros estudios que tienen un alto riesgo de presentar efectos adversos al tratamiento (mielosupresión y diarreas graves). Por último concluimos que se puede considerar que el genotipo del polimorfismo UGT1A1\*28 es útil para el diagnóstico del Síndrome de Gilbert.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 460

### INCIDENCIA DE LA MUTACIÓN MPLW515L EN LOS NPM Phi NEGATIVOS

*Trabajo de:* Biología Molecular.

*Autor/a/s:* MARÍA JESÚS DÍAZ VEGA, GUILLERMO SANTANA SANTANA, CARMEN ELSA LÓPEZ JORGE, MARÍA TERESA GÓMEZ CASARES, GERARDO SÁNCHEZ SÁNCHEZ, CHARLÍN MÉNDEZ CORDOVEZ, TERESA RAMÍREZ NAVARRO, TERESA MOLERO LABARTA.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO DE GRAN CANARIA DOCTOR NEGRÍN

*Provincia:* LAS PALMAS

*Correo electrónico del primer firmante:* susa.lpa2004@gmail.com

## Introducción:

El estudio de la mutación en el codón 515 del gen MPL es útil en el diagnóstico de las neoplasias mieloproliferativas (NMP), ya que su aparición establece un diagnóstico inequívoco y descarta las proliferaciones reactivas como sucede con la mutación JAK2V617F. El gen MPL, localizado en el cromosoma 1, codifica para el receptor de la trombopoyetina (TPO). Una de las dos mutaciones más comunes en NMP se produce en la región citoplasmática del receptor (MPLW515L) y se ha detectado en un 5-10% de las Mielofibrosis primarias (MFP) y en aproximadamente un 2-5% de las trombocitemias esenciales (TE). No se han descrito casos asociados a PV. Esta alteración induce en líneas celulares una hipersensibilidad a la TPO y un crecimiento independiente de los factores de crecimiento, con la consiguiente activación constitutiva de la vía JAK-STAT.

Está indicado el estudio de las mutaciones en el gen MPL ante la sospecha de NMP tipo TE o MFP. Nuestro objetivo fue determinar la incidencia de la mutación MPLW515L en NMP Phi negativas y compararla con la descrita en la literatura.

## Material y métodos:

Se analizaron 169 muestras de sangre periférica o médula ósea de pacientes con NPM Phi negativos: 68 con TE, 86 son NMP sin etiquetar y 15 MFP. La extracción de DNA se realizó en el extractor automático MagnaPure (Roche) siguiendo las indicaciones del fabricante. La mutación MPLW515L se determinó mediante PCR a tiempo real y análisis por Curva de Melting en el aparato LightCycler 2.0. Las condiciones de la PCR fueron las propuestas por Animesh et al. Para ello cargamos 75 ng de DNA en un volumen final de 10 µL. Las sondas HybProbes se añadieron a una concentración de 0.2 µM y los cebadores a 1 µM para el forward y 0.5 µM para el reverse. Se obtuvieron unos picos de melting específicos para el wildtype de 64°C y para el mutado de 54°C respectivamente. Para testar las condiciones del DNA se amplificó un gen control (GAPDH).

## RESULTADOS:

2 de los 68 (2.94%) casos de TE fueron positivos para la mutación MPLW515L. La totalidad de las NMP sin etiquetar, es decir 86 (100%), fue negativa para MPLW515L. En el caso de las MFP sólo 1 de las 15 fue positiva (6.6%).

## CONCLUSIONES:

- 1) La incidencia de mutaciones en MPLW515L encontrada en los casos de TE (2.94%) y de las MFP (6.6%) es similar a la encontrada en la literatura en nuestra población a estudio.
- 2) El sistema de genotipaje con sondas HybProbes es una herramienta rápida y útil para el estudio molecular de la mutación MPLW515L.



# HEMATOLOGÍA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 006

## DETERMINACIÓN DEL TIEMPO ÓPTIMO DE INCUBACIÓN DE LAS MUESTRAS DE SANGRE EN ENFERMOS DE ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE POR CRIOGLUTININAS.

Trabajo de: Hematología

Autor/a/s: M<sup>a</sup> del Socorro Blanco Barbero, M<sup>a</sup> Angeles Diestro Saiz, Dra. Beatriz Arrizabalaga, Dra. Matxalen Olivares Salaverri.

Centro de trabajo: Hospital de Cruces (Barakaldo)

Correo electrónico del primer firmante: socoblanco@euskalnet.net

### Introducción:

La Anemia Hemolítica Autoinmune (AHA) por crioaglutininas constituye una enfermedad que se caracteriza por la presencia, en general sin causa evidente (tipo idiopática), de un elevado título de crioaglutininas de naturaleza IgM y carácter monoclonal (con frecuencia de tipo kappa). Esta patología que se conoce con el nombre de "enfermedad de las crioaglutininas" puede observarse también en el curso de otros trastornos de base como los Síndromes Linfoproliferativos Crónicos o la Cirrosis Hepática. Clínicamente se caracteriza por un síndrome hemolítico de inicio insidioso y evolución crónica larvada que puede intensificarse e incluso presentar crisis de agudización durante el invierno cuando el paciente entra en contacto con ambientes fríos, acompañándose de vasoconstricción, palidez intensa y acrocianosis (nariz, orejas y dedos) reversible con el calor. Un dato muy característico orientativo del diagnóstico desde el momento de la extracción sanguínea es la intensa autoaglutinación eritrocitaria que desaparece cuando la sangre se incuba a 37°C. Este fenómeno es responsable de los errores en los índices eritrocitarios cuando la sangre se analiza mediante un autoanalizador hematológico y que consisten en falsos aumentos del VCM con falsas disminuciones de la cifra de hematíes lo que determina valores muy elevados de CCMH (>46 g/dl). Este efecto puede corregirse incubando la sangre a 37°C antes de introducirla en el autoanalizador. El tiempo de esta incubación es muy variable en las diferentes referencias bibliográficas consultadas.

### Objetivo:

Valorar en 3 pacientes con AHA por crioaglutininas, diferentes tiempos de incubación en baño a 37°C (basal, 10, 20 y 60 minutos), evaluando los diferentes cambios en los índices eritrocitarios que se objetivan en la hematimetría posterior realizada en el autoanalizador, con el objetivo de escoger el tiempo más breve que nos reporte agilidad en la práctica asistencial de nuestro laboratorio.

### Materiales y Metodo

- Tubo Lila Vacutainer con EDTA.
- Baño María 37°C.
- Analizador Beckman Coulter LH780.

Se extrae sangre del paciente en un tubo lila Vacutainer. Se determinan en el autoanalizador el número de hematíes, hemoglobina (Hb) y otros índices eritrocitarios\* con esta primera muestra BASAL mediante el principio Coulter. Incubamos la muestra durante 10, 20 y 60 minutos a 37°C en el baño maría analizando dichos parámetros para cada uno de estos periodos de incubación. De esta forma podemos confrontar los resultados de los distintos tiempos de incubación.

\* VCM = Volumen Corpuscular Medio

\* CCMH = Concentración Corpuscular Media de Hemoglobina (Hb).

### RESULTADOS

	Paciente 1				Paciente 2				Paciente 3			
	Bas	10	20	60	Bas	10	20	60	Bas	10	20	60
VCM (fl)	98,1	95,3	95,5	91,9	130,4	99	98,1	98,3	119,6	107,8	111,7	112,9
NºHematies(106/4l)	1,45	2,90	2,93	3,36	1,25	3,54	3,60	3,60	1,50	2,77	2,48	2,56
CCMH (g/dl)	77,8	40,2	40,0	36,3	73,1	33,8	33,3	33,3	64,6	38,5	39,8	40,0
Hb (g/dl)	11,1	11,1	11,2	11,2	11,9	11,8	11,8	11,8	11,6	11,5	11,5	11,6

### CONCLUSIONES:

- 1) El nivel de hemoglobina en gr/dl es valido y permanece estable en la determinación basal y con las diferentes incubaciones.
- 2) El número de hematíes, el volumen corpuscular medio (VCM) y la concentración corpuscular media de hemoglobina (CCMH) se muestran artefactados en la muestra basal y se corrigen parcialmente, independientemente del tiempo de incubación a 37° C.
- 3) 10 minutos de incubación es el tiempo óptimo para corregir los parámetros afectados por la presencia de crioaglutininas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 012

## ESTUDIO DE LOS NIVELES PLASMÁTICOS DEL FACTOR TISULAR (FT) Y SU INHIBIDOR (TFPI) EN PACIENTES CON INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO (IAM))

Trabajo de: Hematología

Autor/a/s: Adoración Quiroga Brañas, Antonia Sambola Ayala, Ana Ogando Rodríguez, Angeles Rojas López, M<sup>a</sup> Angeles García Sánchez, Ana M<sup>a</sup> Moreno Dominguez, David García-Dorado

Centro de trabajo: Hospital Vall d'Hebron (Barcelona). Servicio: Cardiología Experimental

Correo electrónico del primer firmante: aquiroga@ir.vhebron.net

### Introducción:

El factor tisular (FT), también denominado como tromboplastina o factor III, es una glucoproteína de membrana presente en los fibroblastos de la pared de los vasos sanguíneos y otras células.

En condiciones fisiológicas el FT no está en contacto con la sangre. El FT tiene dos principales funciones, la primera: como receptor celular (interviene en la angiogénesis, la proliferación y adhesión celular). La segunda: como cofactor del factor VII. Su expresión en el torrente circulatorio inicia la circulación extrínseca.

### Objetivo:

Estudiar las diferencias del factor tisular (FT actividad y antígeno) y la vía de inhibición del factor tisular (TFPI) en pacientes con infarto agudo de miocardio (IAM), frente a un grupo de controles sanos sin factores de riesgo vascular.

### MATERIAL Y MÉTODO:

Se determinaron los niveles plasmáticos de FTa, FTA<sub>g</sub> y TFPI Ag en muestras de sangre de 75 pacientes con IAM en el momento previo a la apertura de la arteria, al alta hospitalaria, al mes y a los 6 meses después del evento. Estos marcadores tambien se determinaron en un grupo de controles sanos.

Se utilizaron muestras de sangre anticoagulada con citrato sódico a 0,129 M. Se centrifugaron a 1800 g, 15 minutos y a 4°C y se conservaron a -80°C hasta su análisis.

Para la determinación de proteínas se utilizo la casa comercial AssayPro (Francia), tanto para determinar la parte activa de FT (FTa) como la parte antigénica del FT y el TFPI:

### RESULTADOS:

Los niveles plasmáticos en los controles de FTa: 37,35 pM; FTA<sub>g</sub>: 5,07 pg/ml; TFPI: 118 ng/ml. Los niveles plasmáticos en pacientes de FTa: basal 19,36; al alta 34,37; al mes 28,87; a los 6 meses 28,16 pM. Niveles plasmáticos en pacientes de FTA<sub>g</sub>: basal 20,44; al alta 18,87; al mes 16,26; a los 6 meses 15,26 pg/ml. Niveles plasmáticos en pacientes de TFPIAg: basal 537,6; al alta 181; al mes 178,13; a los 6 meses 162,26 ng/ml.

### CONCLUSIONES:

Nuestros resultados sugieren:

Los pacientes con IAM en la fase aguda muestran niveles de FTA<sub>g</sub> superiores a los controles sanos, por tanto potencialmente activable.

Los niveles de FTa en pacientes, son menores que en los controles, porque están inhibidos por el TFPI.

Los niveles de TFPI en pacientes, son superiores a los de los controles, en parte por el efecto de la heparina administrada.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 020

## COMPARACIÓN DE DOS REACTIVOS COMERCIALES PARA LA DETERMINACIÓN DEL Dímero D EN MUESTRAS CON DIFERENTE GRADO DE HEMÓLISIS

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: Alonso Díez José Antonio, López Cerecedo María Sally, Rodríguez García José Antonio.

Centro de trabajo: Complejo Asistencial Universitario de León

Correo electrónico del primer firmante: jose22alonso@hotmail.es

### Introducción:

La determinación del Dímero D (DD) es la prueba más empleada en el laboratorio de urgencias como screening para descartar la enfermedad tromboembólica venosa. Las muestras presentan con frecuencia diferentes grados de hemólisis, ictericia o lipemia, provocando interferencias en la lectura e interpretación de los resultados.

### Objetivo:

Comparar el comportamiento de dos reactivos para la determinación del DD, de diferente sensibilidad y cuya lectura se efectúa a diferente longitud de onda, en muestras con varios grados de hemólisis en el laboratorio de urgencias.

## Material y métodos:

Se ha determinado el D-Dímero en 244 muestras en el laboratorio de urgencias de Hematología. En todos los casos el plasma obtenido a partir de sangre citratada fue analizado por una técnica de inmunoensayo automatizado por turbidimetría con partículas de látex en el autoanalizador ACL TOP 500® de IZASA mediante el empleo en paralelo de dos reactivos:

- "D-Dimer HemosIL (D-Dimer): reactivo liofilizado cuya reacción se sigue fotométricamente a 405 nm y el punto de corte se establece en 230 ng DD/ml.

- "D-Dimer HS 500 HemosIL (HS 500): Reactivo líquido que no precisa reconstitución, con punto de corte de 500 ng FEU/ml (FEU: unidades equivalentes de fibrinógeno, aproximadamente 2FEU = 1 ng DD/ml). La reacción se sigue a 671 nm, longitud de onda en la que teóricamente la hemólisis, la ictericia y la lipemia producen menos interferencias.

Los resultados situados por encima del rango lineal junto con las interferencias ópticas originaron una primera dilución automática a 1/5 (D-Dimer) o a 1/15 (HS 500), y en caso de no resolverse fue precisa una dilución manual a 1/2 (interferencias) o a 1/10 (DD elevado) para el reactivo D-Dimer. Las muestras se clasificaron en tres grupos en función del grado de hemólisis: (1) sin hemólisis, ictericia y lipemia, (2) con hemólisis moderada (con 50-150 mg/dl de Hb), y (3) con hemólisis intensa (con >150 mg/dl de Hb).

## RESULTADOS:

El nivel de concordancia de los resultados con ambas técnicas en el análisis de las 181 muestras del grupo sin hemólisis fue bueno (índice Kappa: 0,79), no observándose interferencias ópticas con ninguno de los reactivos en ningún caso. Para obtener esos resultados, mientras que con el reactivo D-Dimer fue preciso un 35% de diluciones automáticas y un 6% de diluciones manuales, sólo en 14% se precisó una segunda lectura por DD elevado (0% de diluciones manuales) con el reactivo HS 500.

En el grupo de 41 muestras con hemólisis moderada, la hemoglobina ocasionó interferencias ópticas en el 83% de los casos con el reactivo D-Dimer y en un 2% no se llegó a obtener el resultado; mientras que con el reactivo HS 500 no sucedió ninguno de estos hechos en ningún caso. Con el primero de los reactivos fueron precisas un 83% de diluciones automáticas y un 46% de manuales, mientras que con el segundo los porcentajes fueron del 7% y 0% respectivamente. La concordancia entre ambos métodos fue también buena (índice Kappa: 0,72).

Entre las 22 muestras con hemólisis intensa, la correlación entre ambos métodos fue baja (índice Kappa: 0,22). El reactivo D-Dimer mostró un 100% de interferencias ópticas, originando que en todos los casos fuera precisa la dilución automática y en un 45% la manual, pese a lo cual en un 41% de las muestras no se pudo obtener el resultado. Por el contrario, con el reactivo HS 500 no se mostraron interferencias ópticas en ningún caso, habiendo podido obtener el resultado en todas ellas, siendo precisa únicamente la dilución automática en un 14% de las muestras al haber obtenido un resultado elevado.

## CONCLUSIONES:

1.- Hasta un 20% de las muestras presentaron hemólisis moderada-intensa, lo que constituye la principal causa de rechazo en el laboratorio. 2.- Mientras que este hecho originó un elevado porcentaje de repeticiones e incluso de ausencia de resultados en el análisis con el reactivo D-Dimer, no fue motivo de repetición en ningún caso con el reactivo HS 500, pudiendo efectuarse la lectura en todos los casos, lo que unido a su mayor rango de linealidad permite acortar de forma significativa los tiempos de entrega de los resultados. 3.- A pesar de que el coste del reactivo HS 500 es ligeramente superior, el menor número de repeticiones originó que el coste global del análisis de las muestras fuera un 52% menor con este reactivo, lo que unido a su mayor facilidad de manejo por no precisar reconstitución, supone una notable ventaja.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 021

### COMPARACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE DOS REACTIVOS COMERCIALES PARA LA DETERMINACIÓN DEL DÍMERO D FRENTE A LA INTERFERENCIA POR ICTERICIA Y LIPEMIA

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: López Cerecedo María Sally, Alonso Díez José Antonio, Rodríguez García José Antonio.

Centro de trabajo: Complejo Asistencial Universitario de León.

Provincia: LEÓN

Correo electrónico del primer firmante: sallyloce@hotmail.com

## Introducción:

La determinación del Dímero D (DD) es la prueba más empleada en el laboratorio de urgencias como screening para descartar la enfermedad tromboembólica venosa. Las muestras presentan con frecuencia diferentes grados de ictericia o lipemia, provocando interferencias en la lectura e interpretación de los resultados.

## Objetivo:

Comparar el comportamiento de dos reactivos para la determinación del DD, de diferente sensibilidad y cuya lectura se efectúa a diferente longitud de onda, en muestras con diferentes grados de ictericia y lipemia en el laboratorio de urgencias.

## Material y métodos:

Se ha determinado el D-Dímero en 299 muestras en el laboratorio de urgencias de Hematología. En todos los casos el plasma obtenido a partir de sangre citratada fue analizado por una técnica de inmunoensayo automatizado por turbidimetría con partículas de látex en el autoanalizador ACL TOP 500® de IZASA mediante el empleo en paralelo de dos reactivos:

- "D-Dimer HemosIL (D-Dimer): reactivo liofilizado cuya reacción se sigue fotométricamente a 405 nm y el punto de corte se establece en 230 ng DD/ml.

- "D-Dimer HS 500 HemosIL (HS 500): Reactivo líquido que no precisa reconstitución, con punto de corte de 500 ng FEU/ml (FEU: unidades equivalentes de fibrinógeno; aproximadamente 2FEU = 1 ng DD/ml). La reacción se sigue a 671 nm, longitud de onda en la que teóricamente la hemólisis, la ictericia y la lipemia producen menos interferencias.

Los resultados situados por encima del rango lineal junto con las interferencias ópticas originaron una primera dilución automática a 1/5 (D-Dimer) o a 1/15 (HS 500), y en caso de no resolverse fue precisa una dilución manual a 1/2 (interferencias) o a 1/10 (DD elevado) para el reactivo D-Dimer. Las muestras se clasificaron en cinco grupos: (1) plasma limpio (sin ictericia, lipemia ni hemólisis); (2) plasma con ictericia moderada (Bilirrubina: 3,0-10,5 mg/dl); (3) plasma con lipemia moderada (+1 a +2 turbidez visual escala Beckman Coulter); (4) plasma con ictericia alta (Bilirrubina: 10,5-30,0 mg/dl); (5) plasma con lipemia alta (+3 a +5 turbidez visual escala Beckman Coulter).

## RESULTADOS:

En el grupo 1 no hubo interferencias ópticas con ninguno de los reactivos, por lo que las diluciones realizadas fueron debidas a DD altos. En los grupos 2 y 3, con el reactivo D-Dimer aumentó el porcentaje de diluciones automáticas y manuales, causadas no solo por resultados de DD elevados sino también por interferencias ópticas, con ausencia de resultado en el 2% de los casos con lipemia moderada. Con el reactivo HS 500 se efectuó la lectura en todos los casos y las diluciones realizadas fueron exclusivamente debidas a DD altos. En los grupos 4 y 5, mientras que el 100% de las muestras presentaron interferencias ópticas que no pudieron ser resueltas, originando la falta de resultado en un elevado porcentaje, no se observó tal inconveniente con el empleo del reactivo HS 500.

	Interferencias ópticas		Muestras sin resultado		Diluciones automáticas		Diluciones manuales	
	D-Dimer	HS 500	D-Dimer	HS 500	D-Dimer	HS 500	D-Dimer	HS 500
Plasma limpio (n:175)	0%	0%	0%	0%	35%	14%	6%	0%
Plasma con ictericia moderada (n:29)	31%	0%	0%	0%	52%	10%	24%	0%
Plasma con lipemia moderada (n:58)	22%	0%	2%	0%	31%	3%	16%	0%
Plasma con ictericia alta (n:13)	100%	0%	38%	0%	100%	8%	69%	0%
Plasma con lipemia alta (n:24)	100%	0%	21%	0%	100%	29%	75%	0%

## CONCLUSIONES:

1.- Las muestras con diferentes grados de ictericia y lipemia son un importante motivo de interferencia en la lectura óptica con el reactivo D-Dimer, lo que origina un elevado porcentaje de repeticiones e incluso de ausencia de resultados, especialmente cuando éstas son elevadas. Con el reactivo HS 500 en ningún caso fue precisa la repetición por ese motivo, pudiendo efectuarse la lectura en todos los casos, lo que unido a su mayor rango de linealidad permite acorta de forma significativa los tiempos de entrega de los resultados. 3.- A pesar de que el coste del reactivo HS 500 es ligeramente superior, el menor número de repeticiones originó que el coste global del análisis de las muestras fuera en torno a un 50% menor con este reactivo, lo que unido a su mayor facilidad de manejo por no precisar reconstitución, supone una notable ventaja.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 031

### EVALUACION DEL AUTOANALIZADOR HEMATOLÓGICO CELLA-VISION DM96 PARA MUESTRAS PATOLÓGICAS.

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: SANDRA DEL CARMEN HERNÁNDEZ SOSA. IRENE MARGARITA CEBALLOS PÉREZ. M<sup>a</sup> DOLORES ORTIZ PÉREZ. JOSEFA SANTANA MENTADO.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE GRAN CANARIA DR NEGRIN

Provincia: LAS PALMAS

Correo electrónico del primer firmante: schernandezsosa@gmail.com

## RESUMEN

El Cella-VisionTM DM96 (CV) es un sistema automático que consta de un alimentador de frotis, microscopio con cámara y software que presenta imágenes celulares de un frotis de sangre periférica (SP) en May Grünwald-Giemsa. Realiza el diferencial leucocitario, la morfología eritrocitaria y el cálculo de plaquetas, supervisado por el usuario. En nuestra experiencia el autoanalizador de células por imagen CV, ofreció una aproximación inicial adecuada a la fórmula leucocitaria y al recuento plaquetar en muestras normales.

## Objetivo:

Evaluar los resultados del CV en muestras patológicas comparado con la observación por hematólogo/s expertos en un laboratorio de hematología.

## MATERIAL Y MÉTODO:

Se analizaron 60 muestras con patología hematológica (20 muestras con cada una de las siguientes alteraciones: linfocitosis (>6000/), monocitosis (>1.500) y blastos (>80%). Las muestras fueron procesadas por autoanalizador Cell-Dyn Sapphire (CD) y clasificadas según cumplían los requisitos citados. La extensión y tinción se realizó de forma automatizada con el Sysmex SP1000, sometiéndose a la valoración por CV y a la visión del frotis por hematólogo experto, comparando ambos resultados. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante los tests de Bland-Altman y Passing-Bablok.

## RESULTADOS:

En las muestras con linfocitosis evidenciamos que el CV infraestimó con respecto al observador experto con un sesgo de 4.5% y un coeficiente de correlación de 0.63, denominando linfocitos como otras células (promielocitos, mielocitos, blastos, células no identificadas, etc...). El CV infraestimó la presencia de blastos con un sesgo de 4.2% y un coeficiente de correlación de 0.83, clasificando los blastos como otras células (promielocitos, mielocitos, no identificadas, monocitos, linfocitos estimulados...). En las monocitosis es donde más se aproxima a los valores del observador evidenciando una sobreestimación del CV con un sesgo de 1.2% y un coeficiente de correlación de 0.82. Sólo una muestra se alejaba bruscamente de la línea media al contar como monocitos a los linfocitos estimulados.

## CONCLUSIONES:

Este estudio demuestra la necesidad de supervisión por un hematocitólogo experimentado en muestras patológicas, sobre todo en el caso concreto del recuento de linfocitos en muestras con linfocitosis atípica, sin precisar una corrección experta el resto de los parámetros estudiados.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 043

## EL DÍMERO D EN URGENCIAS, ¿ES CONCLUYENTE PARA EL DIAGNÓSTICO DE ETEV?

*Trabajo de:* Hematología

*Autor/a/s:* Hortensia Jiménez de la Casa, M<sup>a</sup> Ángeles González Fernández, M<sup>a</sup> del Prado García Muñoz, Gloria Martín García, Pilar Moreno Morales.

*Centro de trabajo:* Hospital Nuestra Señora del Prado de Talavera de la Reina

*Provincia:* Toledo

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

## Introducción:

Ante el exceso de peticiones de Dímero D al Laboratorio de Hematología de Urgencias, con el consiguiente gasto que eso conlleva, se propone reflexionar sobre la utilidad de la determinación del Dímero D en las urgencias hospitalarias para el diagnóstico de enfermedad tromboembólica venosa (ETE) incluyendo Trombosis venosa profunda (TVP) y Tromboembolismo pulmonar (TEP).

## Objetivos:

Nuestro objetivo es demostrar que el exceso de peticiones realizadas de Dímero D solicitado en el Laboratorio de Urgencias de Hematología no es útil para el diagnóstico definitivo de ETEV.

## MATERIAL:

SIL IZASA

Ykonos (Servicio Radiología).

ACL-TOP 500

Hemosil TM: Inmunoensayo de partículas de látex para determinación cuantitativa de Dímero-D.

## MÉTODO:

Se realiza un muestreo aleatorio de los Dímero D realizados en el Laboratorio de Hematología de Urgencias, registrando los resultados tanto patológicos (>230 ng/ml) como normales y se comprueba si existe diagnóstico radiológico de ETEV (Eco-Doppler para TVP y miembros inferiores y TAC torácico para TEP).

## RESULTADOS:

El total de muestras recogidas fue de 70; 6 (8.6%) no fueron válidas para el análisis por ser: 3 No coagulan, 2 muestras insuficientes, 1 muestra lipémica. 53 muestras (75.7%) fueron positivas para el umbral de Dímero D (>230 ng/ml) y 11 fueron negativas (15.7%). Únicamente un paciente tiene TAC diagnóstico de TEP y Eco-Doppler de TVP y otro paciente tiene diagnóstico de TEP pero no se confirma TVP por Eco-Doppler. El resto de los pacientes (97.1%) no tiene diagnóstico confirmado de ETEV en el momento del estudio.

## CONCLUSIONES:

Es conocido el valor de la Determinación del Dímero D dentro de los algoritmos diagnósticos de ETEV (Valor predictivo negativo 99%). También son conocidas las numerosas situaciones clínicas que pueden cursar con aumento de Dímero D, como: edad avanzada, neoplasias, sepsis, coagulación intravascular diseminada, etc. Por ello, la principal utilidad del Dímero D en el Laboratorio de Hematología de Urgencias es la de excluir la ETEV cuando aparece en un rango normal, en pacientes con baja probabilidad clínica de padecer ETEV.

En ningún caso, tal y como demuestran los resultados, el Dímero D elevado sirve como prueba confirmatoria de ETEV.

Por otro lado, en la mayoría de pacientes sin diagnóstico de ETEV (97.1%), el resultado de la determinación de Dímero D fue positivo (75.7%), generando mayor confusión al facultativo receptor de los resultados.

Se debería plantear cuál es la verdadera razón por la que solicitar una determinación de Dímero D en las urgencias hospitalarias, ya que así se puede hacer una correcta utilización de la técnica y una contención del gasto sanitario.

Nuestro agradecimiento a la Dra. Ugalde por su ayuda y revisión.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 053

## ESTUDIO COMPARATIVO DE DOS REACTIVOS PARA LA DETERMINACIÓN DEL FACTOR ANTI-Xa(HBPM)EN EL ANALIZADOR STA RACK EVOLUTION (STAGO/ ROCHE DIAGNOSTICS)

*Trabajo de:* Hematología.

*Autor/a/s:* Carmen Guillen Esteban, Mercedes Paredes Recio, M<sup>a</sup> Jesus Anton Castellanos

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Mostoles

*Provincia:* MADRID

*Correo electrónico del primer firmante:* Brevas3@hotmail.com

## INTRODUCCION:

Las heparinas son medicamentos, anticoagulantes, utilizados en la profilaxis y tratamiento de las enfermedades tromboembólicas

El tratamiento con heparinas de bajo peso molecular (HBPM) no necesita monitorización ya que su efecto terapéutico es predecible si se ajusta la dosis al peso del paciente, excepto en ciertos casos (obesidad, insuficiencia renal, embarazo & .), en los que si es necesaria la medición precisa de la actividad anti-Xa de la heparina suministrada, para reajustar la dosis según resultado obtenido.

## Objetivo:

Comparar los resultados de dos reactivos de la misma casa comercial, uno de ellos liofilizado y otro líquido (listo para su uso), determinar sus ventajas, sus inconvenientes y llegar a una conclusión, dependiendo de los resultados obtenidos, para ver cual de los dos responde mejor a nuestras necesidades.

## MATERIALES Y METODO

Durante un periodo de tiempo se han utilizado paralelamente para el estudio dos reactivos similares cuya función es la Determinación in Vitro de ANTI Xa o HBPM suministrada a los pacientes. Analizamos 50 muestras en el coagulometro STA Rack Evolution (Stago/Roche Diagnostic).

Los reactivos estudiados fueron:

- STA ROTACHROM HEPARIN Reconstituir con 4ml de agua destilada estabilizar una hora antes de usarlo.

- STA LIQUID ANTI-Xa Listo para su uso a bordo del analizador, dejar atemperar unos minutos si se saca de nevera.

Una vez que ambos test. se han calibrado con sus correspondientes calibradores , pasado los controles comunes para ambos reactivos y observando que ambos controles están en el rango establecido, procesamos las muestras y comprobamos que en los 5 primeros días el 85% de los resultados eran iguales o similares en los dos reactivos, transcurridos estos 5 días (el reactivo a bordo del analizador) el STA LIQUID ANTI-Xa seguía siendo estable obteniendo los resultados previstos ,mientras que el liofilizado presentaba una desviación  $\pm 2$  abrigándonos a calibrar y hacer nuevo reactivo.

## CONCLUSIONES:

Aunque los resultados obtenidos no presentan diferencias significativas en cuanto a medición de niveles anti-Xa y se ajustan a lo esperado.

El reactivo STA LIQUID ANTI-Xa nos permite ganar tiempo en la realización de la prueba ya que una de las ventajas es la ausencia de variabilidad en la reconstitución frente al ROTACHROM HEPARIN (liofilizado) que había que esperar una hora antes de ser utilizado. Otra ventaja del STA LIQUID ANTI-Xa a ser mucho más estable no hace falta calibrar tan a menudo, lo que nos hace ahorrar en reactivo. Además con la misma curva de calibración es posible determinar la actividad anti-Xa de HBPM o de HNF indistintamente.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 054

## AUTOADSORCIÓN DE SUERO EN EL SERVICIO DE TRANSFUSIONES

*Trabajo de:* Hematología.

*Autor/a/s:* QUIRÓS FERNÁNDEZ LAURA, LÓPEZ ROPERO MARÍA ISABEL,

LÓPEZ LÓPEZ-PINTOR CLARA EUGENIA, CÍVICOS MARTÍN ANA MARÍA

*Centro de trabajo:* HOSPITAL LA MANCHA CENTRO (ALCAZAR DE SAN JUAN)

*Provincia:* CIUDAD REAL

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

## Introducción:

La técnica de autoadsorción con PEG se realiza en pacientes a los que queremos transfundir pero presentan un Coombs directo positivo, eluido positivo y una panaglutinina en suero.

## Objetivos:

Lo que se persigue con esta técnica es poder transfundir en el Hospital de la Mancha Centro a estos pacientes sin necesidad de tener que enviar el estudio del aloanticuerpo que pudieran tener estos pacientes a otros Hospitales de referencia. Con el PEG podremos descartar la presencia de un aloanticuerpo que estuviese enmascarado en estos pacientes antes de transfundirlos.

## Material:

- Hematíes y suero del paciente a transfundir.
- Gamma PEGTM 10 ml (Polyethylene Glycol Additive for Antibody Detection test).
- Suero salino fisiológico.
- Tubos de hemólisis y Pipetas Pasteur.
- Baño 37° C y centrífuga.

## Método:

- Centrifugar la muestra de EDTA y separar el plasma.
- Lavar los hematíes del paciente 3 veces.
- Añadir PEG y suero del paciente a partes iguales.
- Incubar a 37° C.
- Centrifugar y retirar sobrenadante y realizar con éste el escrutinio en tubo (PANOSCREEN) con Ig G monoespecífica.
- Si el escrutinio continua siendo positivo, volver a reabsorber el suero sobrante.

## RESULTADOS:

Tras realizar la técnica, en caso de positividad intensa, es muy probable que la panaglutinina persista en el suero absorbido, por lo que hay que volver a reabsorber.

Todos los resultados negativos hay que confirmarlos añadiendo una gota de hematíes control, sensibilizados con Ig G (la lectura debe ser positiva).

## Conclusión:

En los enfermos con autoanticuerpos se pueden encontrar aloanticuerpos en un 23 % de los casos, pero esto no resulta fácil debido a que el escrutinio de anticuerpos nos saldrá positivo. Las pruebas de compatibilidad no son eficaces y pueden enmascarar la presencia de aloanticuerpos patológicos.

La técnica de absorción con PEG es una prueba fácil, que consume poco tiempo y que puede llevarse a cabo en enfermos que no se hallan transfundido en los últimos 3 meses.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 071

## ESTUDIO DE TROMBOEMBOLISMO VENOSO(TEV): RELACIÓN ENTRE LA DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA A LA PROTEÍNA C ACTIVADA Y LA PRESENCIA DE LA MUTACIÓN DEL FACTOR V LEIDEN.

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: Jiménez Martín Remedios, Barquero Campos Dolores, García Navarro Cristina, Baro Roman Francisca, Heiniger Mazo Anabel.

Centro de trabajo: Hospital Regional Universitario CARLOS HAYA

Provincia: Málaga

Correo electrónico del primer firmante: miraquebien@hotmail.com

## INTRODUCCION:

El cribado inicial del factor V Leiden, consiste en el estudio de la Resistencia a la Proteína C Activada (RPCa). La RPCa contribuye en la regulación de la coagulación, inactivando el factor Va, que enlentece el proceso de coagulación en sangre. Si una persona presenta resistencia a la proteína C es posible que exista mayor riesgo de trombosis. En alrededor de un 95% de los individuos con resistencia a la proteína C, la causa radica en una mutación Factor V Leiden. Si realmente existe resistencia a la RPCa, entonces 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 mutación.

## Objetivos:

El objetivo principal de este trabajo es analizar la incidencia del Factor V Leiden en estudios de trombofilia y evaluar la correlación entre la determinación de la Resistencia de la Proteína C Activada por métodos coagulométricos y la presencia de la mutación del Factor V Leiden por métodos moleculares.

## Material y método:

Se realiza un estudio de un total de 228 muestras de pacientes atendidos en el Hospital General Universitario Carlos Haya (Málaga).

Las muestras recepcionadas en el Laboratorio se procesaron siguiendo el protocolo que detallamos a continuación:

- Para el estudio de la RPCa se utiliza 3 ml de sangre total en un tubo de coagulación con citrato sódico. Se centrifuga a 3000 r.p.m. durante 10 minutos, el plasma obtenido se decanta y lo trabajamos en el equipo de coagulación BCS XP de Siemens.
- Para la determinación del Factor V Leiden se necesitará 3 ml de sangre total en un tubo con EDTA, a través del método de amplificación de DNA genómico mediante reacción

en cadena de la polimerasa (PCR), y detección de la mutación en estado heterocigoto u homocigótico, mediante sondas FRET y análisis de curvas de fusión (melting analysis).

## RESULTADOS:

De los 228 estudios de Trombofilia realizados, se excluyen 2 muestras por contaminación con heparina. De las 226 restantes, los resultados de la RPCa fue normal en 215 (95,1%) y resistente en 11 (correspondiendo al 4,9%). La presencia de la mutación del Factor V Leiden (Heterocigoto positivo) se detectó en el total de los casos con RPCa resistente y ninguna mutación del Factor V Leiden en los estudios con RPCa normal.

## DISCUSION:

La correlación entre ambas técnicas: la RPCa y mutación del Factor V Leiden es del 100%. La incidencia de la mutación es similar en nuestro medio a la referida en la literatura.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 084

## ESTUDIO DE TROMBOFILIA EN EL ÁREA SANITARIA DE MELILLA

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: RUIZ FERRI, AMPARO; RODRIGUEZ CAMACHO, M<sup>a</sup> LUISA; DOMINGUEZ LOMENA, M<sup>a</sup> JOSE; RIOS QUESADA, CATALINA; CHAPARRO MEDINA, INES; ROSA HADDU, CARMEN.

Centro de trabajo: HOSPITAL COMARCAL DE MELILLA

Correo electrónico del primer firmante: amparo\_rufe@hotmail.com

## Introducción:

La trombofilia se define como el trastorno de la hemostasia que se caracteriza por la tendencia a desarrollar episodios trombóticos. En la trombofilia hereditaria esta tendencia está determinada por causas genéticas, siendo sus principales causas las deficiencias de inhibidores de la coagulación (antitrombina y proteínas C y S), resistencia a la proteína C activada (causada en la mayoría de los pacientes por la mutación FV Leiden) y la mutación G20210A de la protrombina. Entre las causas adquiridas de trombofilia destacan la presencia de anticuerpos antifosfolípidos, la cirugía, el cáncer y diversos procesos médicos. La hiperhomocisteinemia se ha implicado en la patogenia de la tromboembolia venosa y arterial.

Las indicaciones más aceptadas del cribado de trombofilia son: historia personal de tromboembolia venosa recurrente, primer episodio de tromboembolia venosa en menores de 50 años, trombosis de localización inusual (cerebral, porta, mesentérica), trombosis relacionada con el embarazo, puerperio, anticonceptivos orales o tratamiento hormonal sustitutivo. Otras situaciones en las que puede plantearse son en sujetos asintomáticos con antecedentes familiares de trombosis y defecto trombofílico conocido, así como en mujeres con abortos de repetición o complicaciones en el embarazo.

El estudio de trombofilia no debe realizarse en el evento agudo para evitar el posible artefacto inducido por reactantes de fase aguda. Se debe evitar también su realización bajo tratamiento anticoagulante, ya que la heparina reduce la actividad de la antitrombina y los anticoagulantes orales la concentración de proteína C y S.

## Objetivos:

- Establecer las situaciones clínicas en las que se realiza un estudio de trombofilia en nuestra población.
- Conocer las determinaciones de laboratorio que se incluyen en estos estudios, así como si se adecuan a los estándares establecidos en la literatura.

## Material y métodos:

Se realiza un análisis descriptivo retrospectivo de los pacientes con estudio de trombofilia en el periodo de Diciembre/09 a Diciembre/10. Los datos epidemiológicos y clínicos se extraen de las historias clínicas (edad, sexo, antecedentes personales y familiares, episodios trombóticos, momento del estudio y tratamiento). Las variables de laboratorio corresponden a las realizadas en nuestro hospital en un analizador BCS (Siemens Healthcare Diagnostics S.L.): antitrombina III (método funcional), proteína C y S (método funcional), resistencia a la proteína C activada (coagulante) y anticuerpo antifosfolípido tipo anticoagulante lúpico. Las técnicas de PCR para la detección de mutaciones (FV Leiden y G20210A), homocisteína y otros anticuerpos antifosfolípidos se realizan en un laboratorio externo de referencia.

## RESULTADOS:

Los estudios de trombofilia realizados en el periodo analizado son 65, correspondientes a 62 pacientes. Para el análisis se elimina un paciente del cual no se disponen datos clínicos. Por edades, 48 pacientes tienen  $\leq 50$  años (78,7%) y 13  $> 50$  años (21,3%). La distribución por sexo es 41 mujeres (67,2%) y 20 hombres (32,8%). El principal servicio solicitante es Neurología con 38 estudios (59,4%), seguido por Reumatología con 10 estudios (15,6%), Hematología y Ginecología con 6 estudios (9,4% cada uno), Medicina Interna con 3 estudios (4,7%) y Nefrología con 1 (1,5%). De los 61 pacientes, solo 8 pacientes (13,1%) tienen un diagnóstico de trombosis venosa: 2 trombosis venosas profundas, 1 embolismo pulmonar y 5 con otras localizaciones (3 trombosis venosas cerebrales, 1 retiniana, 1 esplenoportal y 1 ovárica). El resto de los diagnósticos se distribuyen: abortos de repetición (7 pacientes), estudio neurológico por múltiples patologías (6 cefaleas, 5 accidentes cerebrovasculares, 5 neuritis ópticas y 4 déficits sensitivos como diagnósticos principales), estudio reumatológico por sospecha de conectivopatía (3 posibles síndromes antifosfolípidos y 4 fenómenos de Raynaud entre ellos). 2 estudios se realizan en el contexto de tromboflebitis de repetición.

Los estudios de trombofilia incluyen: proteína C y proteína S (62 estudios), antitrombina III (58 estudios), resistencia a la proteína C (54 estudios), anticuerpos antifosfolípidos (56 estudios de anticuerpos anticardiolipinas y 51 estudios de anticoagulante lúpico), homocisteína (55 estudios), mutación FV Leiden (53 estudios) y mutación G2010A (47 estudios). Solo en 10 estudios se han analizado otras variables (mutación MTHFR, antitrombina III y proteína C antigénica). El 78,1% se realizan de forma ambulatoria. Al total de los 8 procesos trombóticos venosos, se le realizan 9 estudios, siendo 4 de ellos (44,4%) en fase aguda, y 1 de ellos superada la fase aguda pero bajo tratamiento anticoagulante. El hallazgo más frecuente es el déficit de proteína S (12 estudios de los 62 en los que se solicita). Destacar que 7 de estos 12 estudios positivos (58,3%) quedan invalidados (3 realizados durante la gestación, 2 en tratamiento anticoagulante y 2 en fase aguda).

## CONCLUSIONES:

- Solo un pequeño número de los pacientes a los que se realiza el estudio de trombofilia se circunscriben a las indicaciones de cribado.
- Dicho cribado incluye en su gran mayoría los factores genéticos y adquiridos asociados a la trombofilia establecidos en la literatura.
- Se realizan estudios en fase aguda y bajo tratamiento anticoagulante, así como en otras circunstancias, que pueden artefactuar el resultado de los mismos.
- Es necesario establecer un protocolo consensuado de actuación con respecto a la solicitud del estudio de trombofilia que defina las circunstancias clínicas, las pruebas diagnósticas, el momento de realización y las contraindicaciones del mismo.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 092

## LAS CÉLULAS MADRE MESENGIMALES GENERAN UN AMBIENTE PROTUMORAL EN PACIENTES DE LEUCEMIA

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: Isabel Cubillo, Miriam Vázquez, Gustavo Melen, Ana Entrena, Rocío Morata, Manuel Ramírez Orellana, Agustín Zapata, M. Ángeles Vicente, Javier García Castro.

Centro de trabajo: Instituto de Salud Carlos III

Provincia: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: icubillo@isciii.es

## Introducción:

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es la neoplasia más frecuente en la infancia, constituyendo el 80% de todas las leucemias agudas en la edad pediátrica. La supervivencia se ha incrementado notablemente en los últimos 30 años, sin embargo, dos retos permanecen en la actualidad: por un lado mantener la curación disminuyendo al máximo los efectos a largo plazo en los supervivientes, y por otro aumentar las tasas de curación en las LLA de alto riesgo. A lo largo de los últimos años se han invertido muchos esfuerzos y medios en el estudio de los aspectos moleculares de la LLA infantil. Por el contrario, no se ha desarrollado en la misma medida la investigación sobre la biología del órgano en el que surge, se asienta y sobreviven las células leucémicas: el ambiente medular. En especial nosotros nos fijaremos en la interacción entre las células madre mesenquimales (MSC) de médula ósea (MO) y las células leucémicas.

## Objetivos:

- 1.- Obtener y caracterizar fenotípica y funcionalmente cultivos de MSC a partir de muestras de MO de niños con LLA, en diferentes momentos de la enfermedad.
- 2.- Analizar el efecto de BMP4 y las moléculas de la vía de señalización BMP2/4 en dichos cultivos de MSC.
- 3.- Estudiar los efectos de las MSC, sobre células hematopoyéticas sanas y leucémicas, mediante el análisis de los efectos sobre la supervivencia y sobre la proliferación.
- 4.- Analizar factores solubles que puedan ser mediadores de los efectos de BMP4.

## RESULTADOS:

Los resultados más significativos son los siguientes:

- "Un significativo incremento de la apoptosis de progenitores hematopoyéticos sanos cuando se cultivan con MSC aisladas de pacientes con LLA en comparación a los valores observados en cultivos con MSC de donantes sanos.
- "La capacidad de MSC aisladas de pacientes leucémicos para ejercer efectos antiapoptóticos sobre células tumorales. Así, la viabilidad de células de una línea linfoblástica pre-B, REH, incrementa cuando se cultivan con MSC aisladas de pacientes.
- "Nuestros resultados también indican una drástica up-regulación de todos los componentes de la vía de señalización BMP2/4. El significado del aumento de la producción de BMP4 en la MO de pacientes leucémicos no ha sido todavía aclarado, pero nuestros resultados indican que la adición de Noggin a cocultivos de MSC de pacientes con células hematopoyéticas de individuos sanos, incrementa considerablemente la viabilidad de estas últimas.

## CONCLUSIONES:

Por todo lo expuesto, es importante estudiar los factores expresados en el microambiente hematopoyético, las vías de señalización que activan y los genes blanco de su acción, como una nueva herramienta para investigar la biología de las neoplasias hematológicas infantiles y su resistencia a los tratamientos convencionales. Los resultados de nuestro proyecto, centrado en las células madre mesenquimales, como principal y componente

del microambiente hematopoyético donde se desarrollan la patología a analizar: leucemia linfoblástica aguda de células B, nos indican su importancia en la quimiorresistencia y en el balance entre hematopoyesis normal y patológica. Además observamos como la ruta BMP2/4 parece jugar un papel clave en las mutuas influencias MSC-células leucémicas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 102

## INCREMENTO EN TEST DEL ANTICOAGULANTE LÚPICO

Trabajo de: Hematología

Autor/a/s: JUANA MORAL MORAL, FRANCISCA MARIN MUÑOZ, MARIA CASTILLO LOPEZ, JOAQUINA VISO RODRIGUEZ,

Centro de trabajo: LABORATORIO DEL HOSPITAL COMARCAL DE LINARES (JAEN))

Provincia:

Correo electrónico del primer firmante: juani\_moral\_@hotmail.com

## Introducción:

El anticoagulante Lúpico es un test funcional del laboratorio de Hematología, que detecta los anticuerpos específicos contra los Fosfolípidos (sustancias presentes en el revestimiento de las células).

Caracterización de Anticoagulante Lúpico: un grupo heterogéneo de anticuerpos que van dirigidos contra fosfolípidos de carga negativa o contra complejos formados entre fosfolípidos y proteínas (beta-2-glicoproteína 1 o factores de la coagulación como la Protrombina). Estos anticoagulantes interfieren con las pruebas de coagulación en las que participan los fosfolípidos tales como el Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TPPA), el Test de Veneno de Víbora de Russell Diluido (TVVRD), etc. Los fosfolípidos son necesarios para la correcta coagulación sanguínea.

## Material y método:

se presenta el estudio de todas las peticiones con estudios de coagulación: anticoagulante Lupico (AL), en tubos de Citrato de Sodio (tapón azul), realizadas entre 2005-2010.

La técnica es test LAC Screen y LAC Confirm que son reactivos desarrollados para simplificar y estandarizar la detección del AL en evaluaciones clínicas:

1. LAC Screen tiene una concentración baja en fosfolípidos por lo que el reactivo es altamente sensible a la presencia del AL alargando el tiempo de coagulación en presencia de éste.
2. Una alta concentración de fosfolípidos en el LAC Confirm neutraliza el AL y acorta los tiempos de coagulación. El veneno de víbora de Russell, en presencia de calcio, activa directamente al Factor X de la muestra.
3. Se emplean dos pruebas simultáneas del plasma del paciente, los resultados se valoran según la ratio obtenida.

Método: se realiza en analizador ACL- futura /ACL Advance, ACL 8000/9000/10000 y ACL TOP (Instrumentation Laboratory Company - Lexington, MA 02421-3125 (USA). Es recomendable para un mejor diagnóstico que el LAC Screen y el LAC Confirm se procesen juntos. Para calcular las Ratios del LAC Screen y del LAC Confirm el método es:

1. Para cada lote de LAC Screen y LAC Confirm debe obtenerse un Rango de Normalidad de acuerdo al documento H21-A4 (VOL. 23, N° 35) de la NCCLS.
2. Calcular la Media de cada Rango de Normalidad en segundos.
3. La Media de cada Rango de Normalidad se usará como denominador común para el cálculo de las Ratios.
4. Un valor de >2 indica presencia de Anticoagulante Lupico, por debajo de este se realiza un test de mezcla: 1:1 de plasma problema y plasma normal. Si es > 1.2 se confirmará.

Realizamos dos pruebas de screening y una de confirmatorio.

Resultado: de los TEST de los 1056 pacientes con trastornos, en las pruebas de screening como las confirmatorias, exponemos:

VARONES: del 30.02 % test:

— EL 10.04 % SON POSITIVOS: con un diagnóstico de trombosis, acv& .

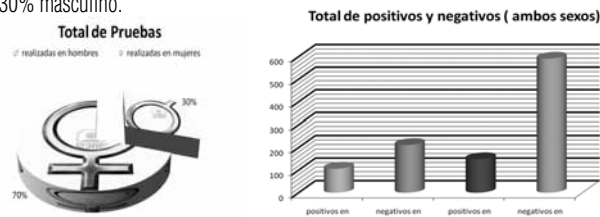
— EL 19.98 % SON NEGATIVOS.

HEMBRAS: del 69.98 % test:

— EL 14.02 % SON POSITIVAS: con un diagnóstico de esterilidad, abortos&

— EL 55.97 % SON NEGATIVAS

Importante señalar que la media de edad de este grupo fue de 30-40 años, en relación con la distribución por sexo, se obtuvo que el 70% de los pacientes son del sexo femenino y el 30% masculino.



## Conclusión:

la incorporación del test LAC Screen y LAC Confirm (técnicas para la detección del AL) en nuestro Hospital, es sencillo y rápido para el diagnóstico en Pacientes con un mayor riesgo de sufrir manifestaciones trombóticas y abortos; desde la incorporación de la prueba en

nuestro departamento. Entre los años 2005-2010, los resultados obtenidos permiten afirmar que su realización ha ahorrado tiempo y costes (al no tener que enviarla a Laboratorios Externos), así como una mayor prontitud y calidad asistencial en el diagnóstico clínico de los pacientes en el Hospital Comarcal de Linares.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 104

## EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD IN VITRO DE Dímero-D A CORTO PLAZO

*Trabajo de:* Hematología.

*Autor/a/s:* Carmen Raya Bustos, Florentina Geriz, Ana M. Fernández, M. Teresa Villegas, Manuel Arroyo Fernández

*Centro de trabajo:* LABORATORIO ANÁLISIS CLÍNICOS. HOSPITAL CLÍNICO SAN CARLOS. MADRID

*Correo electrónico del primer firmante:* carnabus9633@yahoo.es

### Introducción:

La determinación de Dímero-D es una herramienta cada vez mas utilizada para el diagnóstico de trombosis y para la monitorización de terapias trombolíticas. El nivel de Dímero-D se encuentra elevado en plasma en la trombosis venosa profunda, el tromboembolismo pulmonar y la coagulación intravascular diseminada. Siendo la determinación de éste parámetro fundamental en el Laboratorio de Urgencias.

### Objetivos:

En éste estudio se pretende evaluar la estabilidad a corto plazo de Dímero-D en muestras procesadas transcurrido un tiempo desde su extracción, centrifugadas y mantenidas a temperatura ambiente.

### Material y métodos:

Para la determinación cuantitativa de Dímero-D en plasma citratado, utilizamos un inmunoensayo turbidimétrico con partículas de látex a las que se les ha unido un anticuerpo monoclonal (Hemosil D-Dimer HS500). Automatizado en el sistema ACL TOP.

Realizamos la determinación de Dímero-D en 65 muestras escogidas al azar de pacientes de Urgencias con valores normales y patológicos.

El punto de decisión clínica en nuestro laboratorio es de 500ng/ml.

Las muestras recogidas en plasma citratado (9:1) son centrifugadas. Se realiza una primera determinación a tiempo cero y se mantienen a temperatura ambiente para realizar posteriores determinaciones a las 4 y 6 horas.

Nos centramos en muestras cuyos valores de Dímero-D se encuentran próximos al valor de decisión en los que la variación de resultado debida al retraso en su determinación, tendría una mayor repercusión clínica. Dividimos para ello las muestras en 3 grupos: a) valores por debajo de 400ng/ml, b) entre 400-600ng/ml y c) por encima de 600ng/ml.

### RESULTADOS:

Se observa un incremento de la media (en %) entre las determinaciones a tiempo cero y a las distintas horas tras su almacenaje a temperatura ambiente. En el primer grupo (valores <400ng/ml) fue de 4,2% a las 4h y de 18% a las 6h; el segundo grupo (valores entre 400-600ng/ml) fue de 4,2% a las 4h y del 20% a las 6h; para el grupo de valores >600ng/ml fue de 0,4% y 8,4% respectivamente.

### CONCLUSIONES:

Los datos obtenidos muestran la estabilidad de Dímero-D en plasma conservado a temperatura ambiente hasta las 4 horas tras su centrifugación. A las 6 horas observamos un aumento significativo de los resultados con respecto a los valores iniciales.

En la evaluación de los valores próximos al nivel de decisión clínica, observamos que el almacenaje de las muestras a temperatura ambiente, por un tiempo superior a 4 horas podría cambiar la clasificación de algún paciente, pasando de valores por debajo a valores por encima del punto de decisión.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 105

## TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ACTIVADA ALARGADAS POR LA CONTAMINACIÓN DE VIAS HEPARINIZADAS.

*Trabajo de:* Hematología.

*Autor/a/s:* Castellón Toro, María Isabel; Cámara Medina, Purificación; Gomez Morales, Margarita; Pérez Zenni, Francisco Javier; Ríos Tamayo, Rafael.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada.

*Provincia:* Granada.

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

### Introducción:

El tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT) es el tiempo de coagulación que se obtiene al añadir un activador de la vía intrínseca, fosfolípidos y cloruro cálcico al plasma citratado. Es sensible a todos los procoagulantes excepto Factor VII y Factor XIII, así mismo y dependiendo del reactivo empleado es sensible al anticoagulante Lúpico y a la heparina, siendo el parámetro utilizado como control del tratamiento con heparina no fraccionada.

Una de las causas de alargamiento del APTT es la contaminación de las muestras por

heparina, cuando las muestras se obtienen de catéteres heparinizados. Esta circunstancia se pone de manifiesto en el laboratorio por alargamiento del tiempo de trombina (muy sensible a la heparina) y normalidad del tiempo de Reptilase (insensible a la heparina).

Dade® Heparinase® contiene heparinasa I capaz de romper la molécula de heparina y de neutralizarla antes de la realización de APTT, TP (tiempo de protrombina) y TT (tiempo de trombina).

### Objetivos:

El objetivo de este trabajo fue la valoración del número de muestras contaminadas con heparina y el porcentaje de ellas, en las que la utilización de un solo pase con Dade® Heparinase® permitía obtener tiempos de APTT normal. Para ello, diseñamos un estudio descriptivo comparativo.

### Material y métodos:

**MATERIAL** — Coagulómetro: Siemens BCS® XP. Reactivos: Pathromtin SL, Thromborel S, Thromboclotin, Batroxobina, Dade® Heparinase®.

**MÉTODOS** — Se seleccionaron 57 muestras con APTT alargado después de excluir las muestras hemolizadas y todas aquellas provenientes de pacientes en tratamiento con heparina no fraccionada ó HBPM (Heparina de Bajo Peso Molecular), procedentes de los servicios de UCI, Reanimación, Hematología, Hemodiálisis y Cirugía general.

Utilizamos plasma con citrato sódico al 3,8% pobre en plaquetas. Centrifugación a 1780g durante 10 minutos. Las determinaciones son realizadas por fotometría, tanto las realizadas con el plasma primario como tras la mezcla al disolver durante 15 minutos este plasma primero con el reactivo Dade® Heparinase®.

### RESULTADOS:

De 57 muestras con APTT alargadas, 12 (21 %) presentaban alargamiento de TT con tiempo de Reptilase normal indicativa de contaminación con heparina. El APTT se normalizó tras la disolución de estas muestras con Dade® Heparinase® excepto en 4 muestras correspondientes a un enfermo con Carcinoma hepático, otro con resección intestinal previa y colecistitis isquémica gangrenosa en el momento de la realización de la prueba, otro con isquemia intestinal y otro paciente con síndrome nefrótico secundario a Lupus Eritematoso Sistémico.

### Conclusión:

Un 21% de las muestras con alargamiento de APTT estaban contaminadas con heparina. La disolución con heparinasa I permitió la normalización del APTT de estos pacientes (excepto en aquellos con coagulopatías asociadas).

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 106

## VALORACION DE LA VARIABILIDAD DE LOS PARAMETROS DE SERIE ROJA Y PLAQUETAR EN EL CURSO DE UNA SEMANA

*Trabajo de:* Hematología.

*Autor/a/s:* Garcia Navarro Cristina, Baro Roman Francisca, Barquero Campos Dolores, Vidales Mancha Isabel María, Heiniger Mazo

*Centro de trabajo:* Hospital Regional Universitario CARLOS HAYA

*Provincia:* Málaga

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

### Introducción:

Con bastante frecuencia llegan a nuestro laboratorio muestras extraídas en días previos, teniendo que decidirse si los parámetros obtenidos del análisis son válidos o no. Para poder llegar a esta conclusión y decidir que las muestras analizadas, independientemente del día de la extracción, son válidas, hemos estudiado un número determinado de ellas, en días sucesivos, comenzando el mismo día de la extracción y finalizando siete días después.

### Objetivo:

Observar la variabilidad de los diferentes parámetros hematimétricos experimentados a lo largo de una semana, de un número representativo de muestras cuyos valores fueron inicialmente normales.

### MATERIAL Y METODO:

Se han estudiado cincuenta y cinco muestras extraídas en el hospital en tubos con EDTA-K3, cuyos parámetros hematimétricos fueron considerados inicialmente normales. Para ello hemos utilizado el contador celular ADVIA 2120i (SIEMENS®). Todas las muestras fueron analizadas durante siete días consecutivos en el mismo contador. Durante el tiempo de estudio fueron conservadas a una temperatura de 4°C. El estudio estadístico consistió en el cálculo de la media aritmética de todos los parámetros emitidos por el contador celular.

### RESULTADOS:

Los resultados los hemos expresados en medias de los valores absolutos.

	1º día	2º día	3º día	4º día	5º día	6º día	7º día
Hematies	4,68	4,60	4,60	4,60	4,50	4,54	4,53
Hb	14,43	13,60	13,57	13,70	13,60	13,60	13,57
Htco	42,02	41,78	42,29	41,70	43,07	43,00	43,05
VCM	89,94	91,07	92,23	92,40	94,80	94,80	95,17
HCM	29,70	29,65	29,58	29,87	29,86	29,90	29,90

	1º día	2º día	3º día	4º día	5º día	6º día	7º día
CHCM	34,30	32,56	31,74	32,34	31,05	31,50	31,51
Plaquetas	242	261	264	257	266	261	254

#### CONCLUSION:

Con este estudio observamos que tanto el número de hematíes como la HCM son los parámetros mas estables a lo largo de la semana de estudio. La Hb, Htco y número de plaquetas, experimentaron discretas variaciones por debajo o por encima de las cifras iniciales. Los parámetros que sufrieron mayor variabilidad fueron el VCM y la CHCM, y se constató a partir del segundo día de extracción

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 107

#### VARIABILIDAD DEL CONTAJE Y DIFERENCIAL LEUCOCITARIO A LO LARGO DE SIETE DÍAS.

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: Baro Roman Francisca, García Navarro Cristina, Jiménez Martín Remedios, Vidales Mancha Isabel María, Heiniger Mazo Anabel

Centro de trabajo: Hospistal Regional Universitario CARLOS HAYA

Provincia: Málaga

Correo electrónico del primer firmante: pakybaro@hotmail.com

#### Introducción:

Con objeto de estudiar la estabilidad en el tiempo de las muestras de hemograma, respecto a la cifra del recuento y diferencial leucocitario, se ha analizado un número determinado de muestras extraídas en nuestro hospital y consideradas en el momento del análisis como normales. Todas ellas se evaluaron en el mismo contador celular durante siete días consecutivos con el objetivo de poder determinar si experimentaban o no alguna variabilidad.

#### Objetivo:

Valorar la estabilidad del número de leucocitos y poblaciones leucocitaria a lo largo de siete días.

#### MATERIAL Y METODO:

Hemos estudiado cincuenta y cinco muestras extraídas en tubos de EDTA-K3, eligiendo las que de inicio presentaban conteo y diferencial leucocitario dentro de la normalidad. Para ello hemos utilizado el contador celular ADVIA 2120i (SIEMENS®). Todas las muestras fueron analizadas durante siete días consecutivos en el mismo contador. Durante el tiempo de estudio fueron conservadas a una temperatura de 4°C. El estudio estadístico consistió en el cálculo de la media aritmética de todos los parámetros emitidos por el contador celular.

#### RESULTADOS:

Los datos numéricos se expresaron en medias de los valores absolutos.

	1º día	2º día	3º día	4º día	5º día	6º día	7º día
Nº Leucos	7,42	7,29	7,46	7,02	7,16	7,06	7,03
PMN	4,62	4,59	4,73	4,47	4,59	4,56	4,54
Linfocitos	1,93	1,88	1,82	1,76	1,73	1,72	1,63
Monocitos	0,43	0,44	0,46	0,47	0,46	0,46	0,44
Eosinófilo	0,18	0,18	0,17	0,15	0,16	0,18	0,20
Basófilo	0,04	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05	0,08

#### CONCLUSION:

Según los datos obtenidos del estudio, parece existir bastante estabilidad en las cifras totales de leucocitos y en el recuento diferencial de los mismos a lo largo de los siete días de estudio, no obstante a partir del 4º día de extracción, se aprecia una discreta variabilidad por exceso o por defecto en todos los parámetros.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 110

#### EVALUACIÓN DEL SYSMEX XE-5000 PARA EL ANÁLISIS AUTOMATIZADO DE CÉLULAS SANGUÍNEAS EN EL LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO (LCR)

Trabajo de: Hematología

Autor/a/s: MARÍA ESTEFANIA GONZALEZ RODRIGUEZ, SANDRA DEL CARMEN HERNANDEZ SOSA, MERCEDES LUGO GONZALEZ, TERESA GONZALEZ SANTANA.

Centro de trabajo: H. UNIVERSITARIO DE GC DOCTOR NEGRIN

Provincia: LAS PALMAS

Correo electrónico del primer firmante: FANYGONROD@HOTMAIL.ES

#### RESUMEN:

El método de referencia para el recuento celular en el LCR es la cámara citométrica, pero es lento, variable inter-observador y produce errores, por lo que es deseable la automatización

de medidas que estandarice y simplifique estos análisis. Así mismo la detección temprana de células neoplásicas en LCR es determinante para la actitud terapéutica, por lo que necesitamos nuevos sistemas de análisis. Los nuevos analizadores hematológicos con software para líquidos biológicos (LB) pueden solucionar lo expuesto. Así el Sysmex XE-5000 (SXE) además de realizar el diferencial leucocitario en los LB es capaz de detectar células de alta fluorescencia (HFBF) que revelan la presencia de células tumorales, mesoteliales y/o monocitos-macrófagos activados, excluyéndolos del conteo leucocitario.

#### Objetivo:

Evaluar la utilidad del SXE en la detección de células sanguíneas presentes en el LCR desde un punto de vista cuantitativo y cualitativo. Se comparan los resultados obtenidos en el SXE con los derivados del citocentrifugado (CC) del LCR observado al microscopio óptico (MO) y Citometría de flujo (CF)

#### Material y método:

Se analizaron 232 muestras de LCR obtenidas de pacientes con neoplasia hematológica: leucemia aguda y LNH (n=216), con neoplasias sólidas (n=4) y miscelánea: infecciosas, inflamatorias y otras (n=12).

Las muestras fueron procesadas de forma manual, realizando un CC del LCR y posterior tinción May-Gründwald-Giemsa para su visualización al MO y analizadas por el autoanalyzer SXE. Paralelamente se procedió al estudio por CF incubando la muestra con diferentes paneles de 4 colores de anticuerpos monoclonales según la patología a estudio. Aquellos donde se desconocía el diagnóstico fueron incubados con HLA-DRFITC/CD19PE/CD3PERCP/CD45APC. Se adquirieron todos los eventos presentes en 0.5-1 ml de muestra en un Facs Scalibur de BD. El software de análisis fue Paint a gate de BD. Las muestras fueron clasificadas por CF en: acelulares, infiltradas y reactivas.

#### RESULTADOS:

La sensibilidad de detección de leucocitos fue mayor para el SXE que para el CC (88% de detecciones frente a 51%). El 42.9% de los infiltrados neoplásicos tienen HFBF mayores que 0, por sólo un 8% de los no infiltrados y un 10% de los reactivos.

Existen diferencias en el porcentaje de HFBF entre los grupos (Kruskal Wallis p<0.001).

Aplicando la U de Mann-Whitney se observa un mayor porcentaje de HFBF en los infiltrados comparado con los acelulares (p< 0.001) y con los reactivos (p=0.015). No se observó diferencias en el porcentaje de HFBF entre los infiltrados y reactivos (p>0.801)

Las infiltradas por CF tienden a tener mayores valores en HFBF. No obstante, en los tres tipos clasificados por CF, lo más frecuente es encontrar valores iguales a cero.

#### Conclusión:

El SXE puede representar un método rápido y fiable en la detección de leucocitos en LCR. Si unimos el valor del aumento HFBF en muestras de pacientes con neoplasia, podría suponer un método válido de cribaje en laboratorios donde no se disponga de CF.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 123

#### ESTUDIO DE ANTICOAGULANTE LÚPICO EN EL AREA SANITARIA DE MELILLA

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: RODRIGUEZ CAMACHO, Mª LUISA; RUIZ FERRI, AMPARO; DOMINGUEZ LOMEÑA, Mª JOSE; GARCIA TIRADO, ERNESTO; ALVAREZ ABAD, PILAR; RIOS QUESADA, CATALINA.

Centro de trabajo: HOSPITAL COMARCAL DE MELILLA

Correo electrónico del primer firmante: luisazuheros@hotmail.com

#### Introducción:

El anticoagulante lúpico es un anticuerpo antifosfolípido dirigido frente a un complejo protrombina-fosfolípido. Los anticuerpos antifosfolípido constituyen un grupo muy heterogéneo, presentándose en enfermos afectados de lupus eritematoso sistémico, pero también en otras enfermedades autoinmunes, en asociación con infecciones bacterianas y virales, inducidos por fármacos, e incluso aparecen en sujetos sanos.

Sin embargo sólo constituye criterio diagnóstico de laboratorio en el caso del síndrome antifosfolípido primario.

En nuestro servicio se ha implantado la técnica de screening del anticuerpo anticoagulante lúpico, ampliándose al confirmatorio cuando el estudio es positivo.

#### Objetivo:

- Establecer las situaciones clínicas en las que se realiza el estudio de anticoagulante lúpico en nuestro medio.

- Determinar si son necesarias medidas correctoras para optimizar la realización de dicha técnica.

#### Materiales y métodos:

Se realiza un análisis retrospectivo de los pacientes con estudio de anticoagulante lúpico en el periodo de Enero a Diciembre/10. Los datos epidemiológicos y clínicos se extraen de las historias clínicas (edad, sexo y diagnóstico). El screening y confirmatorio del anticuerpo anticoagulante lúpico se determina en nuestro hospital en un analizador BCS (Siemens Healthcare Diagnostics S.L.).



## RESULTADOS:

Los estudios de anticoagulante lúpico realizados en el periodo analizado son 229, a un total de 104 pacientes. Todos los pacientes son incluidos en el análisis. El rango de edad es amplio, entre 5 a 82 años, sin observar predominio por franjas de edad. Por sexos, el predominio es femenino, con 81 mujeres (77,9%). El principal servicio solicitante es Reumatología con 172 estudios (59,4%), seguido por Neurología con 34 estudios (14,8%) y Hematología 11 estudios (4,8%), repartiéndose el 5,3% restante los servicios de Medicina Interna con 5 estudios, Nefrología con 2 estudios, Hospital terciario de referencia con 2 estudios y un estudio solicitado por Atención Primaria, Ginecología y Pediatría. El diagnóstico mayoritario es el de conectivopatía (no específicas y solicitándose la determinación tanto al diagnóstico como durante el seguimiento de la enfermedad). Le sigue en frecuencia la inclusión del anticoagulante lúpico en el estudio de trombofilia (47 estudios de los 229). Del total de 229 estudios, 13 han tenido un resultado confirmatorio positivo (5,6%), de los cuales 12 han sido débiles y 1 de carácter moderado. 8 de estos resultados positivos corresponden a pacientes con conectivopatía (5 Lupus eritematosos sistémicos, 1 Artritis Reumatoide, 1 Síndrome CREST y 1 Síndrome seco seronegativo). El resto de positividades confirman la falta de especificidad de este anticuerpo, siendo positivo en 2 estudios neurológicos por ictus, 1 por cefalea, 1 por neuritis óptica y otro en el estudio de un TPTa alargado sin diátesis hemorrágica asociada). Destaca que a 49 pacientes se les ha realizado en el año 2010 más de un estudio de anticoagulante lúpico (a 31 pacientes se les ha realizado 2 estudios, a 11 pacientes 3 estudios, a 5 pacientes 4 estudios y a 2 pacientes 5 estudios). De estos pacientes, solo 2 (4,0%) tienen un resultado confirmatorio positivo débil. Igualmente, revisando el historial analítico, 31 de estos 49 pacientes (63,2%) tienen  $\geq 5$  estudios realizados, con resultados repetidamente negativos.

## CONCLUSIONES:

-Se observa un amplio espectro de diagnósticos en los que se realiza la determinación del anticoagulante lúpico, lo que puede explicar la baja rentabilidad de dicha determinación en nuestra casuística.

-No parece adecuada la solicitud del anticoagulante lúpico en aquellos pacientes con baja sospecha diagnóstica y resultado previo negativo.

-Como medida correctora derivada del estudio procedería la realización de un protocolo o guía de actuación donde se establecieran las circunstancias clínicas (diagnóstico y/o seguimiento) en los que está indicada la realización de un estudio de anticoagulante lúpico, así como la periodicidad de su repetición si procediera.

Resumen Comunicación Científica -PANEL

Número: 124

## ANÁLISIS POR PCR A TIEMPO REAL DE LAS MUTACIONES MÁS FRECUENTES EN LAS B-TALASEMIAS EN LA POBLACIÓN DE GRAN CANARIA.

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: MERCEDES LUGO GONZALEZ, MARÍA ESTEFANIA GONZALEZ RODRIGUEZ, IRENE CEBALLOS PEREZ, TERESA GONZALEZ SANTANA, SANDRA DEL CARMEN HERNANDEZ SOSA, MARIA DEL MAR AFONSO HERNANDEZ, BEGOÑA BOLAÑOS MONROY.

Centro de trabajo: H. UNIVERSITARIO DE GRAN CANARIA DOCTOR NEGRIN Servicio: Provincia: LAS PALMAS

Correo electrónico del primer firmante: MLUGGON64@YAHOO.ES

## RESUMEN:

El análisis por PCR a tiempo real con sondas de hibridación específicas permite la detección en un solo procedimiento de las mutaciones más frecuentes en España (CD-37; CD-39; IVS I-1; IVS I-6; IVS I-110).

## Pacientes, Material y método:

Se analizaron un total de 250 pacientes residentes en Gran Canaria, de los cuales 72 (28,8%) de ellos tenían origen extranjero (India en el 20,8%). El análisis molecular se realizó por PCR a tiempo real (sistema Light-Cycler) y el uso de sondas de hibridación específicas marcadas con fluoróforos dirigidas al codon CD-39; IVS 1-nt-1, IVS 1-nt-6; IVS-1-nt-110), según una modificación de la técnica descrita por Moreno et al (H. Universitario La fe) que permite el análisis de 5 mutaciones de una sola vez.

## RESULTADOS:

En 169 casos (67,6%) se pudo establecer el diagnóstico sin recurrir a ninguna otra técnica. La distribución de las mutaciones más frecuentes de la b-talasemia fue la siguiente:

CD-37	CD-39	IVS I-1	IVS I-6	IVS I-110	No Mutación *
0 (0%)	46 (18,4%)	40 (16%)	75(30%)	8 (3,2%)	80 (32%)

\* 47 de los 80 sujetos en los que no se encontró ninguna mutación con la técnica descrita eran de origen extranjero (32 hindúes). En 23/80 (28,75%) en los que no se encontró mutación, se observó un pico con la sonda CD-39 a una temperatura anómala (52-53°C). Siete de estos casos fueron secuenciados en el H. Clínico San Carlos, objetivándose la mutación CD41/42 (-TTCT).

## Discusión:

Este método permite la detección rápida y en un solo paso de las alteraciones moleculares más frecuentes de B-talasemia en la población canaria, precisándose el estudio de otras mutaciones para la caracterización de pacientes extranjeros, fundamentalmente en los originarios de la India. Además de las mutaciones anteriormente mencionadas, esta técnica también parece poder discernir la mutación CD 41/42 (TTCT), precisándose secuenciar más sujetos que presenten el pico anómalo para confirmar los resultados. Encontramos una distribución de las mutaciones diferente a la observada en el resto de las regiones españolas analizadas e incluso diferente a la descrita en la población de Lanzarote, con una mayor prevalencia de la mutación IVS 1-6.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 154

## TECNICA RAPIDA DE CMF PARA ESTUDIO DE ROE: NUESTRA EXPERIENCIA

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: Muiños Portela Ana Mª, Arcos Arcos Dominga, Manivesa Deive Monica Mª, Font Gonzalo Carmen.

Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela

Correo electrónico del primer firmante: ana\_muiños\_portela@yahoo.es

## Introducción:

El diagnóstico de esferocitosis hereditaria (EH) se ha basado históricamente en el estudio de la resistencia osmótica eritrocitaria (ROE), generalmente mediante una técnica relativamente laboriosa con gran consumo de tiempo y personal entrenado. Recientemente se han desarrollado nuevas técnicas para el estudio mediante citometría de flujo (CMF) usando el compuesto eosin-5-maleimide (EMA) que evalúa la integridad de las proteínas de membrana del hematíe. Este método es relativamente rápido y objetivo. En Marzo de 2009 se ha publicado un nuevo método(1) que mediante citometría de flujo permite estudiar los pacientes con sospecha de esferocitosis hereditaria, que en este estudio al igual que el método clásico la resistencia osmótica de los hematíes en un medio hipotónico.

## Objetivo:

Intentamos con este póster exponer nuestra experiencia con la mencionada técnica, así como contrastar su uso con diversas patologías hematológicas evaluando posibles falsos positivos.

## MÉTODOS

Se han realizado hasta el momento 30 muestras tanto de pacientes control como de diversas patologías hematológicas así como muestras de pacientes con sospecha de esferocitosis hereditaria, realizando de forma paralela el estudio de ROE clásico.

## DESCRIPCIÓN TÉCNICA

Se ha de preparar una suspensión de eritrocitos, tras una doble dilución. En un primer tubo con 1 ml de suero salino isotónico se deposita una cantidad de muestra que obtenemos con la siguiente fórmula:  $130 / (n^{\circ} \text{eritrocitos/ul})$ . A un segundo tubo con 1100 microl de suero salino isotónico le añadimos 10 ul de la dilución del primer tubo.

Este último tubo con 1100 + 10 ul se lee directamente en el citómetro con un threshold y voltajes adecuados. Tras iniciar la lectura se añaden 900 ul de agua destilada y se reinicia la misma. El resultado final será el porcentaje de eritrocitos que resistan al medio hipotónico mediante la siguiente fórmula (Media de las últimas dos regiones) / (Eventos de la primera\*0,55) multiplicado por 100.

Porcentajes inferiores a un 25% aproximadamente se considerarían con resistencia disminuida.

## RESULTADOS:

Se han analizado 30 muestras de las cuales 2 han resultado positivas tanto por el método clásico como por CMF con una media de eritrocitos residuales de 18%. Las muestras negativas han obtenido un porcentaje medio de 86%. Dentro de las muestras negativas se observa en dos casos de anemias hemolíticas autoinmunes una discreta disminución de hematíes residuales (media 43%).

## CONCLUSIONES:

Dada la rapidez y la facilidad de su desarrollo puede ser usada como screening de EH, previo a la realización de la técnica clásica si existen dudas, o como complementario al estudio por CMF con eosin-5-maleimide.

Realizado este primer acercamiento, se precisa de una mayor cantidad de muestras procesadas para evaluar correctamente la técnica, así como determinar su sensibilidad y especificidad.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 155

## ESTUDIO DE PREVALENCIA DE VIRUS HTLV I/II EN DONANTES DEL PAIS VASCO

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: MORENO RODRIGUEZ, PILAR.FERNANDEZ ANGULO, CRISTINA;GOMEZ GONZALEZ, MªLUZ.REZOLA LLAMA,ANA ROSA

Centro de trabajo: CENTRO VASCO DE TRANSFUSIONES Y TEJIDOS HUMANOS

Provincia: BIZKAIA

Correo electrónico del primer firmante: MARIADELPI.LAR.MORENORODRIGUEZ@OSAKIDETZA.NET

#### Introducción:

Los virus linfotrópicos T humano HTLV I/II pertenecen a la familia Retroviridae. Son virus oncogénicos que afectan a linfocitos T, CD4 CD45 y RO.

Es el agente causal de la Leucemia de Células T del Adulto (ATL) y la Paraparesia Espástica Tropical (PET), Mielopatía asociada al HTLV I (HAM), poliomiolitis, artritis y dermatitis infecciosa.

La infección por HTLV I/II afecta a 10-20 millones de personas en todo el mundo. Es endémica en el Caribe, Sudamérica, Oriente Medio, Japón, Melanesia y África Subsahariana, siendo la prevalencia en estas áreas del 6-37% de los adultos sanos. En España la seroprevalencia es de 1,9/1000 habitantes.

La transmisión del virus se produce por vía vertical, sexual, parenteral (transfusión de sangre o administración de drogas por vía parenteral) así como trasplante de órganos.

Aunque la mayoría de los infectados no desarrollan ninguna patología, el riesgo de desarrollar ATL y/o TSP es del 4%.

Debido al aumento de población emigrante procedente en muchos casos de zonas endémicas y los cambios en las relaciones interpersonales que se ha producido en la sociedad se ha decidido realizar un estudio de seroprevalencia de HTLV I/II.

#### Objetivo:

Estudiar la incidencia de HTLV I/II en donantes potenciales para mantener la seguridad de nuestros hemoderivados e incorporar como donantes a personas oriundas de zonas endémicas. Conocer la prevalencia en la población donante de la Comunidad Autónoma Vasca, valorar el estado epidemiológico y en su caso aplicar medidas que puedan reducir la transmisión de la enfermedad mediante transfusión y/o trasplante de órganos.

#### Material y método:

Se han analizado 98.800 muestras de donaciones, 591 muestras de donantes potenciales (ofrecimientos), 783 muestras de sangre de cordón umbilical (SCU), 432 procedentes de donantes de tejidos y 14 muestras de pacientes hospitalarios en el período comprendido entre enero y diciembre de 2010.

Las donaciones se analizaron con un sistema automático PRISMA (Abbott) mediante inmunoensayo de quimioluminiscencia (Chlia) in Vitro; reactivo Abbott Prism HTLV I/II. Los ofrecimientos y los SCU con un sistema automático ARCHITEC Rhtlv I/II. Las pruebas confirmatorias se analizaron con un sistema automático DXS mediante inmunoensayo (ELISA), reactivo Murex HTLV I/II (Abbott). Todas las muestras con resultado dudoso en PRISMA y/o ARCHITEC fueron enviadas al Centro Nacional de Microbiología de Majadahonda para su análisis.

#### RESULTADOS:

Positivos PRISMA: 51, Positivos ARCHITEC: 19, Positivos DXS: 3, Positivos Majadahonda: 1 El resultado positivo corresponde a una mujer joven procedente de la República Dominicana que permanece asintomática y no ha desarrollado ninguna patología.

#### CONCLUSIONES:

La presencia de HTLV I/II en donantes del País Vasco es prácticamente nula con una prevalencia de 0.052% de pruebas repetidamente reactivas y ninguna confirmada.

Los resultados obtenidos concuerdan con las publicaciones y estadísticas sobre esta enfermedad en cuanto a la procedencia de los positivos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 156

### IMPLANTACIÓN DE LAS BOLSAS DE HEMATIES FRACCIONADAS EN EL HOSPITAL DE VILADECANS

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: Mateu Valladosera, Maria Josepa; Mora Ballesta, Maria Soledad; Gonzalez Rubio, Sara; Chamizo Alvarez, Elena

Centro de trabajo: Hospital de Viladecans.

Provincia: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: mateu.hv@gencat.cat

#### Introducción:

El servicio de transfusión ha ofertado un nuevo producto en el hospital, que consiste en bolsas de sangre fraccionadas en dos fracciones.

El objetivo de este nuevo producto es reducir el riesgo de sobrecarga cardiaca por transfusión. Va dirigido a receptores de edad avanzada, con insuficiencia cardiaca y con anemia crónica severa.

#### MATERIAL Y METODOS:

Valoración de la correcta implantación y la idoneidad de la transfusión con los valores de hemoglobina pretransfusión, la edad de los pacientes y los servicios solicitantes.

Se presenta el proyecto al comité de transfusión del hospital donde es aprobado. Se elabora el circuito de recepción, conservación manejo y envío de las bolsas. Se adapta el sistema informático al nuevo producto. Al mismo tiempo se elabora un comunicado de divulgación del nuevo producto, publicado por la intranet del hospital. El período estudiado es de 8 meses.

Cada bolsa esta fraccionada en dos fracciones, en circuito estéril, enviadas por el centro de Transfusión de referencia.

#### RESULTADOS:

Bolsas recibidas: 239. Bolsas transfundidas: 219. Bolsas de hematíes fraccionadas transfundidas a pacientes que no lo solicitaban por estar cerca de la caducidad: 9 unidades. Baja de bolsas: 2 unidades por rotura. Aumento de stock: 9 unidades.

Hemoglobina g/L	>5-5	5-6	6-7	7-8	8-9	9->9
nº de pacientes	2	2	4	26	22	5

Edad								
Años	60-65	65-70	70-75	75-80	80-85	85-90	90-95	95-100
Pacientes	2	1	9	10	9	6	6	1
Actos transfusionales	5	3	12	14	14	6	7	1

SERVICIOS						
Medicina interna	Cirugía	Digestivo	Urgencias	Anestesia	Trauma	Otros
40	5	1	13	1	1	1

En un periodo de ocho meses se han transfundido a 44 pacientes. Con 63 actos transfusionales. El 30.2 % ha recibido más de una transfusión.

La edad de los pacientes transfundidos esta comprendida ente los 60 y los 96 años, siendo entre 70 y los 85 años los que han recibido mayor número de transfusiones.

Las hemoglobinas que han generado la solicitud mayoritariamente esta comprendida entre 7 y 8 g/L. Se atribuiría a pacientes de avanzada edad i anemias crónicas. Seguimiento de hemoglobinas comprendidas entre 8-9 g/L que sería de receptores con insuficiencias cardiacas.

Los servicios que más solicitudes han generado, son los esperados, los de medicina interna y el servicio de urgencias.

En el mismo periodo de tiempo han habido 320 actos transfusionales de bolsas normales, junto con los 63 solicitudes de hematíes fraccionados son 383, Representan un 16,45% del total de las solicitudes transfundidas en el mismo periodo de tiempo.

#### CONCLUSIONES:

Las hemoglobinas basales en las que han estado transfundidos los pacientes son las esperadas.

La gestión del stock ha sido fácil ya que las unidades próximas a caducar se han podido transfundir a pacientes sin indicación expresa.

La transfusión de medias unidades ha permitido ajustar mejor al clínico, con las hemoglobinas deseadas y disminuir el riesgo de sobrecarga.

Todos los servicios han solicitado bolsas fraccionadas, por tanto la divulgación ha sido la adecuada

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 159

### ESTUDIO RETROSPECTIVO DE LA FRECUENCIA DE GRUPOS SANGUÍNEOS EN LOS RECIÉN NACIDOS DE BURGOS DURANTE EL AÑO 2010

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: Ortega Arnáiz María del Carmen, García Gutierrez Almudena, Martínez Ortega María del Carmen, García Campos Concepción, Martínez Gonzalez Laura, Al Kassam Martínez Daniel

Centro de trabajo: Hospital General Yagüe. Complejo Asistencial Universitario de Burgos

Correo electrónico del primer firmante: carmen.river@hotmail.es

#### INTRODUCCION:

Un grupo sanguíneo es una forma de clasificar la sangre, según los antígenos que presenten los glóbulos rojos en su superficie y los anticuerpos en el plasma. De todos ellos los dos fundamentales son el sistema ABO y RH.

Karl Landsteiner descubrió el sistema ABO al principio del siglo XX y por ello fue premiado con el Nobel de Fisiología o Medicina en 1930.

#### Objetivos:

Conocer el grupo sanguíneo ABO Y RH de los recién nacidos en Burgos y determinar la frecuencia de cada uno de ellos.

#### MATERIAL Y METODOS:

Estudio retrospectivo de las solicitudes recibidas en el laboratorio. La determinación del grupo sanguíneo se realizó con sangre de cordón mediante dos métodos:

– Aglutinación en porta con reactivos comerciales de tipo monoclonal Anti A (IgM) Anti B (IgM) y Anti D (IgM +IgG).

– Aglutinación en gel con tarjetas de DIAMED®(Switzerland) ABO /RH para recién nacidos. Los recién nacidos carecen de anticuerpos naturales Anti-A y Anti-B ya que no aparecen hasta los 4 meses de vida. Por lo tanto, no se realiza el estudio de grupo sérico en esta población.

## RESULTADOS:

Durante el año 2010 fueron procesadas 2240 muestras siendo el total de recién nacidos. El grupo que aparece con más frecuencia es el A (45%) seguido de O (42%) el B (9%) y finalmente AB (4%).

El 84% fue RH positivo y 16% RH negativo.

La coincidencia de ambos métodos fue del 100%.

## CONCLUSION

Los resultados del presente estudio, permiten concluir lo siguiente:

Los valores de las frecuencias observadas de los recién nacidos en el Complejo Asistencial Universitario de Burgos del año 2010 no difieren significativamente de estudios realizados en otros grupos de población a nivel de Castilla y León. Si que difieren ligeramente a nivel nacional donde el grupo mayoritario es el O.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 165

### DISERITROPOYESIS CONGÉNITA: PRESENTACIÓN DE UN CASO

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: Maria Jesus Capel, Noemi Bosch, Isabel Mainar, Dr David Beneitez

Centro de trabajo: Unitat de Laboratoris Clínics, Hospital Vall d'Hebron. Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: chuscapel@yahoo.es

## Introducción:

Las anemias diseritropoyéticas (ACD) son un grupo de trastornos hereditarios de la hematopoyesis caracterizados por anomalías morfológicas de los eritroblastos, que se manifiestan como una anemia arregenerativa con datos de hemólisis debidos a la eritropoyesis ineficaz que presentan. Las anomalías en otras líneas celulares no son frecuentes. El término ADC-2 fue usado por primera vez por Crookston y otros, posteriormente Wendt y Heimpel clasificaron casos como ADC-1. En 1968 estos 2 últimos autores dividieron las ADC en 3 grupos: tipo 1, 2 y 3, clasificación que aún permanece vigente. La ADC-2 también se conoce como HEMPAS por su positividad en la tinción de PAS. En los últimos años se han descrito nuevas formas de ADC basadas en el análisis exhaustivo de los detalles morfológicos, pero su documentación y clasificación son aún imprecisas. El gen responsable de la ACD 1, el CDAN1 (proteína codanin-1) se localiza en el cromosoma 15q15. Según algunos autores, la incidencia de la ADC tipo 1 y 2 es < 1/100 000 nacidos/año. A pesar de los esfuerzos realizados para centralizar los casos comunicados, solo se tienen medidas aproximadas de su prevalencia relativa debido a que muchos casos no se diagnostican. La ADC-2 es la forma más común, mientras que la ADC-3 es rara. El resto de las ADC, no bien caracterizadas, son extremadamente raras y se han descrito casos puntuales.

## DATOS CLÍNICOS Y ANALÍTICOS

Varón de 34 años diagnosticado a los 3 años de vida afecto de anemia diseritropoyética congénita tipo 2 (HEMPAS). Ha recibido tres transfusiones después de 1989 por hemoglobina de 5.8 g/dl. Se le practicó una colecistectomía y esplenectomía en 2003 por una litiasis biliar.

El recuento celular y el diferencial leucocitario obtenido con el autoanalizador LH 750 Beckman- Coulter, nos dio los siguientes resultados Hematíes:  $3.76 \times 10^{12}/L$ , Hemoglobina: 12.46 g/dL, Hematocrito: 36.3 %, Plaquetas:  $478 \times 10^9/L$  Leucocitos:  $11.85 \times 10^9/L$ , Reticulocitos  $24.5 \times 10^9/L$ . En la revisión de la sangre periférica llama la atención la presencia de esritroblastos y una marcada poiquilocitosis.

## DISCUSIÓN

Las ADC Son un grupo de enfermedades raras, en ocasiones difíciles de diagnosticar y en las que hay que realizar diagnóstico diferencial con anemias por déficit de B12 y/o folatos, así como de anemias hemolíticas hereditarias, pero la cuidada observación de la morfología periférica y sobretudo los eritroblastos deben hacer sospechar.

Es importante tener bien diagnosticados estos pacientes, sobretudo en la mujer, ya que durante la gestación y debido a los cambios fisiológicos que triplican la masa de serie roja junto a la eritropoyesis ineficaz, pueden provocar anemizaciones graves durante el embarazo requiriendo de transfusiones.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 166

### ESQUISTOCITOS EN SANGRE PERIFÉRICA: CÓMO DETECTARLOS EN EL MOMENTO DE LA VALIDACIÓN CON LOS HISTOGRAMAS Y ALGUNOS PARÁMETROS DEL HEMOGRAMA.

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: Maria Jesus Capel\*, Nieves Gonzalez\*, Josep Piqueras\*, Ramon Simon-Lopez\*\*

Centro de trabajo: \*Unitat de Laboratoris Clínics, Hospital Vall d'Hebron. Barcelona, \*\* Beckman Coulter Inc. Miami. Florida

Correo electrónico del primer firmante: chuscapel@yahoo.es

## Introducción:

Los esquistocitos son una forma anómala de glóbulos rojos caracterizada por plegamiento

del citoplasma sobre si mismo dándole una forma de hematie con cuernos, también son los denominados, esquizocitos o fragmentos de glóbulo rojo. Se pueden observar en las siguientes situaciones clínicas: Trauma mecánico, malfunción de una prótesis valvular cardíaca, Púrpura Trombótica Trombocitopénica, Síndrome Hemolítico-Urémico, quemaduras severas, corredores de Maratón, shock severo o acidosis, Anemia Hemolítica Intravascular severa. En su presencia suelen verse aumentada la lacto-deshidrogenasa con incremento de algunas isoformas específicas.

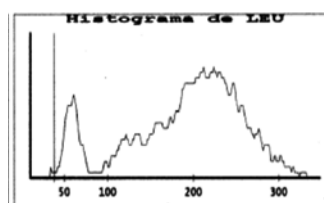
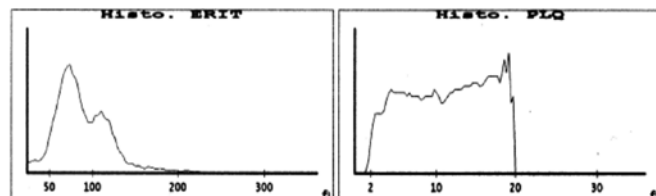
## Material y métodos:

Muestras de sangre total anticoagulada con EDTA k3, procedentes de pacientes adultos y pediátricos ingresados y de consultas externas.

Autoanalizador LH750 de IZASA-Beckman Coulter.

Se recogieron consecutivamente todos los casos en los aparecieron esquistocitos en la laboratorio de rutina del hospital Valle Hebrón (Core-Lab).

## RESULTADOS:



	N	Mean	SD	Median	Minimum	Maximum	2.5 - 97.5 P
HGB	19	10.025	1.4658	10.130	7.710	12.950	7.710 - 12.950
MPV	19	9.320	1.4934	9.030	6.850	12.700	6.850 - 12.700
RDW	19	19.971	4.8498	18.270	14.450	32.580	14.450 - 32.580

Estadísticas básicas de los casos con esquistocitos recogidos para este estudio

Los resultados mostraron que en la mayoría de casos había anemia, cut off Hb < 11.98, anisocitosis RDW > 15.48

## CONCLUSIONES:

Es posible sospechar los casos con esquistocitos por la cola a la izquierda de la grafica RBC, la interferencia en la curva de las plaquetas con caída brusca. La interferencia en la de Plaquetas, ayuda cuando no la hay, pero no ocurre siempre debido a que a veces ocurren a la vez la presencia de plaquetas gigantes y esquistocitos. El volumen plaquetar medio por debajo de 10 con el RDW por encima de 16 son también de gran ayuda.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 185

### APORTACIÓN DE LA AUTOMATIZACIÓN DE LA DETERMINACIÓN DEL D-DÍMERO EN EL LABORATORIO DEL HOSPITAL SANTA BÁRBARA DE PUERTOLLANO

Trabajo de: Hematología

Autor/a/s: Domínguez Márquez, Ana Isabel; Buitrago Molina, Montserrat; Caballero Sánchez-Toledo, María Teresa; Gómez Lajara, Gema María

Centro de trabajo: Hospital Santa Bárbara (Puertollano)

Provincia: (Ciudad Real)

Correo electrónico del primer firmante: anaisdominguez@gmail.com

## Introducción:

El D-Dímero es un péptido producido por la acción de la plasmina sobre la fibrina durante el fenómeno de la fibrinólisis. Por esta característica deriva su aplicación como apoyo diagnóstico de la enfermedad tromboembólica venosa. Su utilidad clínica radica en su alto valor predictivo negativo, lo que se traduce en su capacidad para descartar la existencia de enfermedad. Las técnicas inicialmente empleadas para su determinación del D-Dímero fueron las técnicas de aglutinación por partículas de látex y ELISA automatizado. La aglutinación por partículas de látex es una técnica sencilla y rápida pero con el inconveniente de poseer una baja sensibilidad, y el ELISA es la prueba considerada de referencia pero no posee la rapidez necesaria como para ser utilizada en un servicio de Urgencias.

## Objetivo:

Comparar los resultados que proporciona la determinación del D-Dímero mediante la aglutinación por partículas de látex con el Kit Minutex D-Dimer (Menarini) y el inmunoanalizador mediante ELISA automatizado Mini-Vidas (Biomerieux) que posee una

sensibilidad similar al ELISA convencional pero con un tiempo de respuesta más corto, uno de los objetivos de un servicio de Urgencias.

#### Material y métodos:

Las condiciones requeridas para la muestra fueron plasma en tubo con citrato. Se compararon 66 muestras procedentes del 93,9% del servicio de Urgencias y el resto procedente de Planta. Las muestras se procesaron al mismo tiempo por el personal de Urgencias del Laboratorio, siendo responsable de cada determinación por ambas técnicas el mismo T.E.L. Una vez recibidas las muestras en la sección de Urgencias, se procedieron a su identificación, registro y centrifugación (3000 rpm durante 10 minutos). Previo análisis de éstas se comprobaron aquéllas que no cumplieran las condiciones adecuadas para su determinación (muestras hemolizadas, insuficientes, etc.).

#### RESULTADOS: y CONCLUSIONES:

- En 56 de las 66 muestras los resultados fueron concordantes.
- En 9 muestras se obtuvieron 9 falsos negativos (el ELISA dio positivo y la aglutinación negativa).
- En 1 de las 66 muestras se obtuvo un falso positivo.

Con los resultados obtenidos se decidió implantar una técnica automatizada cuantitativa y con una sensibilidad mayor a la aglutinación por látex debido a:

En un 15,1% de las muestras analizadas se dio un resultado erróneo si tomamos como referencia la técnica más sensible de las dos comparadas, que es el ELISA.

Personal rotatorio de Urgencias con diferente criterio y agudeza visual en la interpretación de los resultados obtenidos mediante aglutinación.

En el algoritmo diagnóstico de la enfermedad tromboembólica venosa se recomienda la utilización en el Laboratorio de técnicas con sensibilidad y valor predictivo negativo elevados para la determinación del D-Dímero.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 189

### FIBRINÓGENO DERIVADO vs FIBRINÓGENO VON-CLAUSS EN HIPOFIBRINOGENEMIAS

*Trabajo de:* Hematología.

*Autor/a/s:* Montserrat Prieto Gueso, M<sup>a</sup> Luisa Carcas Espinosa, M<sup>a</sup> Angeles Esteban Pepió, Sonia Sisó Ros, Juan José Díaz Bernal.

*Centro de trabajo:* Hospital Valle de Hebron

*Provincia:* BARCELONA

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

#### Introducción:

La deficiencia cuantitativa del fibrinógeno se llama hipofibrinogenemia y puede ser congénita o adquirida, siendo la más frecuente la adquirida. La deficiencia cualitativa del fibrinógeno se llama disfibrinogenemia. En la hipofibrinogenemia los pacientes pueden estar asintomáticos o tener problemas hemorrágicos. Las deficiencias graves pueden tener repercusión clínica por lo que la correcta determinación del fibrinógeno tiene una importancia crucial.

#### Objetivo:

Evaluar la exactitud de los valores de fibrinógeno derivado obtenidos en relación con el método de referencia (von-Clauss), para establecer si este método es útil como método de rutina para el diagnóstico de hipofibrinogenemia.

#### MATERIAL Y MÉTODO

##### Material

- Coagulómetro AMELUNG CS-400 (Versión 1.6.14B) de Movaco Grifols.

resultados

- 50 muestras (recogidas con sistema Vacutainer con citrato sódico a una concentración de 0.123 M).

- Centrifuga (12 min. a 3500 rpm a 4°C).

- Reactivos.

##### Método

- Método de determinación de fibrinógeno derivado. Se calcula a partir de la diferencia de absorbancia inicial y final, y monitorizada desde el inicio de coagulación hasta 10 seg. después de estabilizarse la absorbancia por agotamiento de la fibrina de la muestra 7-9.

- Método de determinación de fibrinógeno funcional (método von-Clauss). El test mide el tiempo de transformación de fibrinógeno a fibrina al incubar el plasma, diluido 1:10 con tampón de Owren y en exceso de trombina, siendo la concentración de fibrinógeno proporcional al tiempo medido por métodos mecánico por el analizador, extrapolándose el resultado del paciente en su correspondiente curva de calibración.

#### RESULTADOS:

- La media y desviación estándar de la lectura del fibrinógeno derivado y sus fibrinógeno von-Clauss fueron respectivamente de:

1.22±0.21

1.37±0.86

- Pero la media y desviación estándar de los diferencias porcentuales entre ambos fueron:

11.66± 50.34

- De las 50 muestras leídas por el coagulometro se han observado diferencias de >50% en 7 ocasiones y en 3 de las mismas no se confirmó la hipofibrinogenemia.

#### CONCLUSIÓN

La determinación del fibrinógeno mediante el método derivado no es adecuado en las hipofibrinogenemias ya que puede producir resultados incorrectos con repercusión clínica.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 198

### INCIDENCIAS DE ANTICUERPOS IRREGULARES POSITIVOS EN GESTANTES

*Trabajo de:* Hematología.

*Autor/a/s:* Judit M<sup>a</sup> Gonzalez Alvaredo, Francisca Berral Baena, Consuelo Lapuebla Viel

*Centro de trabajo:* HOSPITAL DE VALME, SERVICIO DE INMUNOHEMATOLOGIA, DE SEVILLA

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

#### INTRODUCCION:

A pesar de la implementación de la profilaxis con Gammaglobulina ANTI-D, la aloinmunización materno fetal

continúa siendo causa de eritroblastosis fetal, y daño hemolítico en el recién nacido. Sin embargo, con una apropiada monitorización e intervención, los posibles daños hemolíticos en el feto pueden tratarse con éxito en la mayoría de los casos.

La evolución del embarazo en gestantes isoinmunizadas es, en general, muy buena sin graves secuelas para el neonato. Desde Junio del año 2010, se implantó en la sección de inmunohematología un nuevo protocolo en el que se incluye la investigación de anticuerpos irregulares también a las gestantes Rh positivas, ampliando a ésta parte de la población el control de anticuerpos con relevancia clínica distintos al anticuerpo Anti-D.

#### Objetivos:

Ventajas de la introducción de tipaje y escrutinio de anticuerpos irregulares positivos.

#### MATERIAL Y METODOS:

De todas las gestantes analizadas desde Junio del 2010 hasta Enero del 2011, 32 de ellas presentaron anticuerpos irregulares positivos. El estudio de éstos se realiza por rutina en gestantes derivadas de las Consultas de Reproducción del hospital ó Centros de Salud correspondientes.

El estudio de anticuerpos irregulares se realizó utilizando un panel de 3 células con fenotipo conocido, Técnica Liss-Coombs (37°C) y medio salino a temperatura ambiente. La identificación de anticuerpos positivos se realizó frente a un panel de 11 células con las mismas características que el anterior y acompañado del fenotipo que también se monta por técnica de tarjeta.

#### RESULTADOS:

La prevalencia de anticuerpos irregulares positivos durante los meses de Junio-Enero (2011) fue del 0,471%

32 de las gestantes totales; presentaron como dijimos anteriormente anticuerpos irregulares positivos. La distribución de los anticuerpos irregulares encontrados en las 32 gestantes, fue la siguiente:

- Anti-D: 46,81%.

- Anti-C: 18%.

- Anti-M: 12,5%.

- Anti-E: 6,25%.

- Anti-K: 6,25%.

- Anti-Cw: 6,25%.

#### CONCLUSION:

Gracias a la implantación del nuevo protocolo de Escrutinio y Tipaje de anticuerpos irregulares, implantado en inmunohematología, se consigue un mejor control y seguimiento de todas las gestantes del área hospitalaria, independientemente que sean Rh positivas ó Rh negativas.

De ésta manera evitamos el posible sufrimiento fetal y efectos adversos sobre el Recién Nacido.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 207

### ANESPLENIA CONGENITA DIAGNOSTICADA A RAIZ DE LA OBSERVACIÓN DE CUERPOS DE HOWELL-JOLLY EN SANGRE PERIFÉRICA

*Trabajo de:* Hematología.

*Autor/a/s:* Maria Angeles Sánchez Porras, Rosalia Berlanga Caro, Dolores Naranjo Jiménez, Encarnación Oliveros González y Dr. David Beneitez Pastor

*Centro de trabajo:* Hospital Vall d'Hebron

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* masanchezp73@hotmail.com

#### Introducción:

La extensión de sangre periférica continúa siendo una de las pruebas iniciales de los estudios de hematología junto al hemograma y un estudio básico de coagulación. En

la mayoría de ocasiones es inespecífica, en ocasiones nos sugiere algún trastorno hematológico o extra hematológico y en otras ocasiones llega a ser diagnóstica o altamente orientativa. Existen diferentes imágenes morfológicas pero cuando se suman entre ellas pueden llegar a tener mucho valor orientativo, así, en el caso que presentamos, la presencia de cuerpos de Howell-Jolly junto a dianocitos y acantocitos, llevó al diagnóstico final de una anesplenía congénita aislada, poco frecuente, sobre todo la forma aislada, con apenas una treintena de casos publicados en la literatura.

#### Objetivos:

Dar a conocer la importancia del reconocimiento de diversas anomalías morfológicas de serie roja, muchas veces menos conocidas que las de los glóbulos blancos, y que en determinadas ocasiones, su observación puede conducir a un diagnóstico final relevante. CASO

Se describe el caso de una paciente de 38 años de edad, a quién se le realiza un estudio de anemias por una leve anemia ferropénica con trombocitosis, con historia de infecciones respiratorias de repetición y varios episodios de neumonía desde la infancia. Se habían realizado por dichas infecciones, estudios de Fibrinólisis, de inmunoglobulinas y de poblaciones linfocitarias, todos ellos normales. Presentaba una analítica con los siguientes datos: Hb 10.7g/dL(12-14), VCM 70fL(82-94), RDW 21.2%(14-15), Leu 12.6 x10E9/L(4-10) (N 8.1, L 3.3, Mo 0.9), Pla 836(150-350) x10E9/L, Ferritina 19 ng/mL (25-250), transferrina 347 mg/dL (200-275). Se realizó una extensión de sangre periférica donde se observaba hipocromía y poiquilocitosis marcada pero destacaban cuerpos de Howell-Jolly, acantocitos, crenocitos y dianocitos, todos ellos sugestivos de esplenectomía. Ante la morfología de sangre periférica y los antecedentes de no haber sido esplenectomizada ni intervenida quirúrgicamente, con historia obstétrica de 2 partos eutócicos, se sospechó una anesplenía congénita por lo que se solicitó una ecografía abdominal donde no se observaba bazo, resto normal y TAC para nueva evaluación, que informa de calcificación esplénica sin bazo accesorios

#### CONCLUSIONES:

Los cuerpos de Howell-Jolly son unos corpúsculos únicos o múltiples que provienen en su mayoría de la degradación del núcleo de los eritroblastos por elementos del sistema mononuclear fagocítico de la médula ósea y que en condiciones normales estos hematíes con estos corpúsculos son retenidos en el bazo y por ello no son visibles en sangre periférica. Su presencia indica hipofuncionalidad del bazo o ausencia de este. Suelen acompañarse característicamente de dianocitos, acantocitos que en caso de duda de un artefacto nos pueden ayudar, y suelen presentar leucocitosis con linfo-monocitosis y trombocitosis. La anesplenía congénita suele cursar con infecciones graves por gérmenes encapsulados (haemophilus, neumococo y meningococo) o infecciones de repetición destacando que su diagnóstico es relativamente sencillo y rápido, sobre todo con la utilidad de la observación al microscopio de una extensión de sangre periférica para visualizar los cuerpos de Howell-Jolly, así como pruebas de imagen no invasivas como una ecografía o una tomografía computerizada.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 208

### ESTUDIO DE LA PREVALENCIA DE LOS DÉFICITS DE B12 Y FOLATOS EN LOS ESTUDIOS DE ANEMIAS Y SU DISCORDANCIA RESPECTO AL VCM. UTILIDAD DE LA HOLOTRANSCOBALAMINA.

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: Rosalía Berlanga Caro, María Angeles Sánchez Porras, Dolores Naranjo Jiménez y Dr. David Beneitez Pastor

Centro de trabajo: Hospital Vall d'Hebron

Provincia: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: roberca41@hotmail.com

#### Introducción:

A raíz de una impresión de la Unidad de Eritropatología de que existían muchos déficits de vitamina B12 y que muchos no cursaban con VCM elevado, recogimos datos para evaluar realmente la situación. En nuestro hospital, cada día nos solicitan de media 90 estudios completos de anemia compuestos por: Hemograma, reticulocitos, ferritina, transferrina, IST, sideremia, folatos, B12 y haptoglobina.

#### Objetivos:

Analizar la prevalencia de los déficits de B12 y folatos en una población de un hospital de tercer nivel mediante la recogida de datos de los estudios de anemias realizados diariamente y además valorar la concordancia con VCM para ver si se cumplen los algoritmos clásicos de la ampliación de un estudio de anemias basados en dicho VCM.

#### RESULTADOS:

Entre Mayo y Diciembre estudiamos algo más de 11.400 estudios de anemias. Considerando como VCM alto a partir de 95 fL y como déficit de B12 valores <360 pg/mL y de folatos <4.01 ng/mL, revisados los estudios de anemias, destacaban 3116 déficits de B12 (27%), 735 (6.4%) de folatos y 306 (2.67%) de ambos. Respecto a la concordancia respecto al VCM esperado, en 2621 (84.11%) de los déficits de B12 y en 579 (78.7%) de los de folatos, existía discordancia respecto al VCM, que era normocítico o microcítico. Se revisaron las causas tanto de las discordancias como de las causas más frecuentes de déficit de B12 junto a los facultativos de la Unidad de Eritropatología.

Para discernir de este 27.14% de déficits de B12, cuáles pueden ser reales y cuáles no, nos interesamos en la posibilidad de determinar la Holotranscobalamina, proteína que contiene la vitamina B12 biológicamente útil. (técnica de Enzima Inmunoensayo con micro partículas (kitt comercial)).

No hay dudas en los valores altos o bajos en general, respecto a la significación clínica, el problema radica en una zona intermedia donde en principio, la Holo-TC debería mostrar de manera precoz una deficiencia de dicha vitamina. Se seleccionaron los estudios de anemias con niveles de B12 entre 280 y 390 pg/mL, analizando 150 muestras. La correlación de Pearson entre vitamina B12 y la Holo-TC fue significativamente estadística de manera bilateral con una  $p < 0.01$  y con una distribución que presentaba una  $r$  de 0.108. La Prueba T de Student para comparar medianas entre variables dependientes también fue significativamente estadística con una  $p < 0.01$ .

#### CONCLUSIONES:

1.- De 11482 muestras estudiadas, en un 27,14% existe una B12 disminuida y en el 84% de esos casos, el VCM no está aumentado. Ello implica que los algoritmos clásicos basados en el VCM no serían útiles.

2.- Respecto a los Folatos, del 6.4% de déficits (735 casos), en un 78.78% (579) existe también discordancia con el VCM.

3.- Papel de la Holotranscobalamina en los déficits subclínicos y en los falsos niveles bajos. Son dos variables dependientes pero con alta variabilidad, el intervalo entre 275/280 y 325/330 parece tener una relación más estrecha en nuestro estudio.

#### \*AGRADECIMIENTOS

Queremos dar las gracias a la casa comercial Abbott Diagnostics, que nos facilitó un aparato tipo AxSYM, donde hemos realizado las determinaciones de HoloTranscobalamina.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 209

### TTPA ALARGADO EN NIÑOS SIN SIGNIFICADO HEMORRÁGICO Y/O TROMBÓTICO.

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: M<sup>a</sup> DEL PRADO GARCÍA MUÑOZ, OLGA GARCÍA CORROCHANO, HORTENSIA JIMENEZ DE LA CASA

Centro de trabajo: HOSPITAL NTRA. SRA. DEL PRADO

Provincia: TOLEDO

Correo electrónico del primer firmante: pradogarcia@ya.com

**Introducción:** La detección precoz de anticoagulante lúpico en la infancia, es importante por la posibilidad de diagnosticar una posible patología trombótica y/o hemorrágica significativa.

#### Objetivo:

Presentamos el caso de dos niños de 1 y 2 años de edad, con TTPA alargados, en los que la detección de AL no tuvo ninguna relevancia ni significado hemorrágico o trombótico. Nuestro objetivo es proponer un protocolo en el laboratorio de Hematología, que evite que por niveles detectables de AL, que posteriormente se demuestran no significativos clínicamente, se demore una cirugía que el paciente necesita en un momento dado.

Se analizó en un preoperatorio de rutina, la muestra de sangre de dos niños. Uno de ellos de 2 años de edad, fue ingresado por sospecha de enfermedad celíaca para realizarle una biopsia en quirófano; y el otro paciente de 1 año, presentó un cuadro de infección respiratoria, más diarrea (probablemente viral). En ambos casos, obtuvimos TTPA alargados. El procedimiento habitual es demorar la cirugía programada, que en el primer paciente existía, hasta aclarar un posible déficit de factores. En nuestro caso, proponemos realizar de forma rutinaria una prueba de mezclas, para determinar a priori, si es un déficit de factores (en el caso de que corrija) o un inhibidor si el TTPA sigue alargado.

#### MATERIAL:

Coagulómetro ACL-TOP 3G (IZASA).

Analizador de la función plaquetar PFA 100 (DADE BEHRING).

Centrifuga.

Reactivos: cefalina activada, solución cloruro cálcico, plasma deficiente de factor VIII, factor Von Willebrand Ag y Act, cartuchos colágeno/ADP y colágeno/EPI, veneno víbora Russell y T. coag. Silica.

Pool plasma normal.

Plasma paciente citratado.

#### Métodos:

Ante plasmas pacientes (dos niños), con TTPA alargados, procedemos a realizar un estudio de mezclas, encontrando que no corrige, por lo que se deduce que estamos ante la presencia de anticoagulante y/o inhibidor.

Se realiza la prueba de AL que en ambos casos resulta positiva.

Dentro de estos estudios también se realizaron las siguientes pruebas: factor VIII, IX, factor Von Willebrand Ag y Act, y tiempo de obturación plaquetar, resultando todas ellas negativas.

#### RESULTADOS:

En ambos casos la prueba de mezcla no corrigió y se objetivó la presencia de un AL en los dos niños, sin repercusión clínica; Por otra parte en los niños el AL aparece como consecuencia de infecciones o procesos inmunes, y el 90% de casos corrigen estos niveles detectados a los 2 meses, poniéndose de manifiesto el carácter transitorio de estos anticuerpos.

## Conclusión:

La realización de una prueba de mezclas de forma rutinaria ante TTPA alargados, podría aclarar en una primera etapa si se trata del déficit de factores de coagulación o de la presencia de un AL, que en la mayoría de los casos pediátricos no tiene relevancia clínica, evitándose de esta forma demoras en las intervenciones del paciente, como es el caso de una cirugía programada.

Agradecemos la Dra. LOBATO DE BLAS su colaboración.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 214

## ANÁLISIS DEL EFECTO CITOTÓXICO/CITOSTÁTICO DE NUEVOS FÁRMACOS EN LINFOMA DE CÉLULAS DEL MANTO.

*Trabajo de:* Hematología.

*Autor/a/s:* Jocabed Roldán Moreno, Mónica López Guerra, Laia Rosich, Dolors Colomer.

*Centro de trabajo:* Centre Esther Koplowitz, Institut d' Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer, Hospital Clínic i Provincial de Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* jocabed89@yahoo.es

## Introducción:

La evolución clínica del linfoma de células del manto (LCM) es muy agresiva, con respuestas cortas a la terapia y frecuentes recaídas, de manera que son pocos los pacientes que se curan con los tratamientos actuales. Por ello, y a pesar de su baja incidencia, es uno de los linfomas que actualmente representa un mayor desafío en el campo de la investigación de nuevas terapias. La mayoría de los fármacos utilizados en la quimioterapia convencional son citotóxicos, es decir basan su efecto antitumoral en la inducción de muerte celular por apoptosis. Sin embargo, también existen compuestos citostáticos cuyo efecto antitumoral no consiste en la inducción de apoptosis sino en la inhibición de la proliferación celular. Ante un nuevo compuesto, el primer paso es validar su eficacia antitumoral, y en este sentido los estudios in vitro en líneas celulares tumorales son una herramienta muy útil.

## Métodos:

Se ha analizado el efecto antitumoral de dos fármacos (Fármaco 1 y Fármaco 2) en 5 líneas celulares de LCM. Las células se han incubado con diferentes dosis de cada compuesto durante 24 y 48 horas a 37°C y 5% CO<sub>2</sub>. Para analizar la citotoxicidad, tras el tratamiento las células se marcan con Anexina-V conjugada con isotiocianato de fluoresceína (FITC) y yoduro de propidio (PI) y se analizan por citometría de flujo. La anexina-V se une a los residuos de fosfatidilserina que expone la célula una vez entra en apoptosis, y que es una señal para su reconocimiento por macrófagos. Para los cálculos de citotoxicidad, consideramos como células apoptóticas la población anexina-V positiva. A partir de los resultados de un fármaco a diferentes dosis, se calcula la dosis letal 50 (LD50), que se define como la dosis necesaria para que el fármaco reduzca la viabilidad celular al 50%. De manera paralela, para determinar la proliferación celular se ha utilizado el ensayo MTT, que es un método colorimétrico que mide la actividad metabólica de las células viables. El MTT se basa en la reducción metabólica del bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol (MTT) en un compuesto coloreado de color azul (formazan). Tras un período de tiempo determinado de captación del MTT, la reacción se para lisando las células, solubilizando así el formazán producido con isopropanol: HCl (24:1) y se procede a la lectura de absorbancia a 570 nm en un espectrofotómetro. La absorbancia de cada muestra es directamente proporcional al número de células viables. A partir de los datos a diferentes dosis, se calcula la concentración inhibitoria 50 (IC50), que se define como la dosis necesaria para que el fármaco reduzca la proliferación celular al 50%.

## RESULTADOS:

Se han calculado las LD50 y las IC50 en un panel de 5 líneas celulares de LCM. Así, hemos demostrado que el fármaco 1 es citostático ya que induce parada de proliferación celular sin muerte y que el fármaco 2 es citotóxico.

## CONCLUSIONES:

El marcaje con anexina-V y el ensayo MTT son métodos fiables y complementarios para el cribado de nuevos fármacos en LCM. Los estudios in vitro constituyen el primer paso para definir la eficacia de un nuevo compuesto, y poder así analizar su mecanismo de acción y transferir los resultados a la práctica clínica.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 234

## DIAGNÓSTICO DE DREPANOCITOSIS O ANEMIA FALCIFORME EN UN ÁREA INTEGRADA DE BIOTECNOLOGÍA.

*Trabajo de:* Hematología.

*Autor/a/s:* Fresneda Díaz Carmen Josefa, Alonso Ibarra Isabel María, Jiménez Martínez María José, García Montes Encarnación.

*Centro de trabajo:* E.P Hospital de Poniente

*Provincia:* Almería

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

## Introducción:

La Anemia Falciforme o Drepanocitosis es un trastorno homocigoto de la hemoglobina (Hb) (HbSS) que obedece a una anomalía de los genes de la globina (genes <sup>2</sup>). Existe una incapacidad para la formación de Hb A, por lo que la hemoglobina es mayoritariamente Hb S, lo que confiere una mayor rigidez al hematíe en condiciones de desoxigenación. Se observa una pequeña proporción de Hb A2 y, ocasionalmente, un aumento de la Hb Fetal. Con la desoxigenación, la Hb S polimeriza, incrementando la rigidez del hematíe y alterando su forma (falciformación), lo que condiciona una dificultad para su paso a través de la microcirculación de los tejidos, con la consiguiente hemólisis y oclusión de pequeños vasos. Se detecta con frecuencia en zonas endémicas de malaria (raza negra) aunque también se observa en otros grupos étnicos como árabes, indios y griegos.

## Descripción del caso clínico.

Niño de 3 años, de raza árabe que acude a Urgencias refiriendo un fuerte dolor abdominal y con aspecto de enfermedad grave.

Se solicita analítica con hemograma y bioquímica.

Los técnicos de Urgencias (gracias al Área Integrada de la que disponemos), alertan a Hematología de que un niño de 3 años tiene una hemoglobina de 7,8 g/dl. Al comprobar que se trata de un niño inmigrante y con anemia se realiza la técnica HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Presión) como screening de hemoglobinopatía estructural y se detecta una variante de hemoglobina (S/C) que supone aproximadamente un 77% ; además, aumento de Hb F (11,2%), ausencia de Hb A1 y elevación de Hb A2 (5,7 %). Inmediatamente después se le hace un test de falciformación con metabisulfito sódico como agente reductor, obteniendo un resultado positivo en lectura inmediata, lo que confirma un cuadro de Drepanocitosis o de Anemia Falciforme. Completamos el estudio con un frotis en el que se observan numerosos hematíes falciformados y dianocitos. Además, reticulocitos 20%, LDH 1.111 UI/ml, haptoglobina 6 mg/dl, bilirrubina total 1,49 mg/dl y bilirrubina directa de 0,35 mg/dl. Todos ellos datos indicativos de hemólisis.

## Conclusión.

Es posible diagnosticar una Drepanocitosis, una patología grave y poco conocida en nuestro medio hasta hace unos años, en un corto período de tiempo, siempre que contemos con conocimientos, recursos y una coordinación adecuada entre los distintos profesionales del Área Integrada de Biotecnología.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 239

## OBTENCIÓN DE LAS CÉLULAS STEM MESENCQUIMALES PARA SU APLICACIÓN EN EL TRATAMIENTO DE LA DISCOPATÍA DEGENERATIVA INTERVERTEBRAL LUMBAR

*Trabajo de:* Hematología

*Autor/a/s:* Teresa García Montes, Eva Lorenzo Iglesia, Manuel Herrero Martín, Natalia López-Holgado, Olga López Villar, Eva María Villarón, Fermín M Sánchez-Guijo, M<sup>a</sup> Consuelo del Cañizo.

*Centro de trabajo:* Hospital Clínico Universitario de Salamanca

*Correo electrónico del primer firmante:* mtgm23@hotmail.com

## RESUMEN:

Las Células Stem Mesenquimales (CSM) son un tipo de células madre adultas que pueden encontrarse en diferentes tejidos del organismo como por ejemplo la médula ósea (M.O), tejido adiposo, líquido amniótico, etc. Entre las características principales está su alto potencial de diferenciación hacia distintos tipos celulares, así como su actividad inmunomoduladora. Esto hace que se esté estudiando su aplicación en diferentes campos de la medicina regenerativa. En este trabajo nos vamos a centrar en el uso de las CSM para el tratamiento de la Discopatía Degenerativa Intervertebral Lumbar. Dado que estas células se encuentran en baja proporción en la M.O, es necesario aislarlas y expandirlas in Vitro.

## Objetivo:

Obtención de una suspensión celular de CSM (0,5-1,5 x10<sup>6</sup> células/kg del paciente) en soporte de fosfato cálcico e hidroxiapatita para su posterior infusión al paciente con Discopatía Degenerativa Intervertebral Lumbar

## MÉTODOS

Se aislaron las células mononucleadas de una muestra de M.O (30 ml) por separación mediante gradiente de densidad con Ficoll-Paque.

Se cultivaron en medio con  $\pm$  MEM suplementado con antibiótico, heparina y lisado plaquetario. Se realizaron sucesivos pases tripsinizando las células y cambiando el medio de cultivo. El crecimiento se controló mediante el microscopio invertido. Tras aproximadamente 20 días de cultivo se recogieron las CSM, y se procedió a su conteo y análisis de viabilidad. En todos los casos se obtuvieron un número adecuado de células (0,5-1,5 x 10<sup>6</sup> células/kg) fueron colocadas sobre un carrier de fosfato tricalcico e hidroxiapatita para su posterior aplicación en el lecho de fusión.

Antes de su infusión al paciente se comprobó que las células reunían los criterios mínimos de calidad establecidos por la ISCT (Sociedad Internacional de Terapia Celular):

-Análisis por citometría de flujo: Expresión para CD 90, CD105, CD73 y negatividad para CD34, CD19, CD45, HLA-DR.

-Pluripotencialidad: capacidad de diferenciación hacia hueso, cartílago y grasa.  
-Morfología fibroblástica.

## RESULTADOS:

Hemos realizado 5 expansiones de CSM cuyos datos se resumen en la siguiente tabla1

Tabla 1: resultados expansiones CSM/FUSIÓN

PACIENTE	Nº CMN	VIABILIDAD CMN	Nº TOTAL CSM obtenidas	VIABILIDAD CSM obtenidas	DIAS TOTAL CULTIVO
MUESTRA 1	15,45X106	98%	104X106	97%	19 días
MUESTRA 2	162X106	98%	402X106	95%	21 días
MUESTRA 3	430X106	96%	618X106	97%	28 Días
MUESTRA 4	369X106	95%	509X106	93%	30 Días
MUESTRA 5	920X106	98%	315X106	93%	18 Días

## RESULTADO

El método de expansión utilizado en nuestro laboratorio permite obtener un nº de células stem mesenquimales adecuado para su aplicación en este tipo de pacientes. Además estas CSM cumplen con los criterios de calidad exigidos por la ISCT.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 240

## (CONGELACIÓN Y DESCONGELACIÓN DE CÉLULAS STEM MESENQUIMALES EN LA UNIDAD DE PRODUCCIÓN DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA)

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: (Eva María Lorenzo Iglesias, Teresa García Montes, Manuel Herrero Martín, Natalia López-Holgado, Olga López- Villar, Eva María Villarón, Fermín M. Sánchez-Guijo, M<sup>a</sup>Consuelo del Cañizo)

Centro de trabajo: (Hospital Universitario de Salamanca)

Correo electrónico del primer firmante: (evama3@hotmail.com)

## RESUMEN:

### CONGELACIÓN Y DESCONGELACIÓN DE CÉLULAS STEM MESENQUIMALES EN LA UNIDAD DE PRODUCCIÓN DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA

Las células stem mesenquimales (CSM) son un tipo de células madre adultas que se han aislado a partir de diferentes fuentes celulares como por ejemplo la médula ósea (MO), el tejido adiposo o el hueso trabecular. Las CSM se están utilizando en la práctica clínica, pero es necesario obtener un número adecuado de las mismas antes de su utilización bajo normativa GMP por ser consideradas como medicación para terapia celular somática.

### Objetivo:

Desarrollar un protocolo para criopreservar las CSM de forma que pueda garantizarse la estabilidad de las mismas y que además permita su infusión con seguridad para el paciente una vez descongeladas.

### MÉTODOS.

A partir de la MO (100ml), se obtuvieron las células mononucleadas mediante separación por gradiente de densidad con Ficoll-paque. Estas células se cultivaron en Medio  $\pm$  MEM suplementado con antibiótico, heparina y lisado plaquetario y tras un mes de cultivo, aproximadamente, se obtuvo un número adecuado de células para infundir a los pacientes. Estas células cumplieron los criterios mínimos de calidad establecidos por la ISCT (Internacional Society for Cellular Therapy). Posteriormente, las CSM fueron criopreservadas en nitrógeno líquido mediante congelación programada a una concentración en torno a 1x10<sup>6</sup>/ml de solución criopreservadora (10% de DMSO en plasma AB), en dosis de 50 a 90 ml. Tras la solicitud de infusión se procedió a descongelar las células en el baño de 37°C recogiendo en jeringas y administrándoselas al paciente.

### RESULTADOS:

Se realizó la expansión de CSM de 7 donantes sanos. La mediana de células obtenidas fue de 405 millones. El nº de dosis obtenidas fue de 44. Los controles de calidad realizados durante la expansión fueron correctos.

El ciclo automático de criopreservación se realizó de forma adecuada en todos los casos. El test de esterilidad realizado sobre el producto final resultó correcto en todas las bolsas criopreservadas. La viabilidad celular preinfusión fue del 98% (rango 97-100%).

Se han realizado 27 infusiones siguiendo el protocolo descrito. En tres de los productos celulares preinfusión se obtuvieron cultivos positivos. En el momento de la infusión no se produjo ningún efecto adverso lo que demostró que los cultivos se debían a contaminación en la manipulación. Se encontró el foco de infección, siendo éste el baño de descongelación y se puso medida correctora cambiándose el agua del mismo con más frecuencia. La viabilidad de las células preinfusión fue del 95% (rango 73-99%).

### CONCLUSIÓN

Basándonos en la técnica establecida en nuestro centro para la criopreservación e infusión de células hematopoyéticas, se ha desarrollado este método para las CSM. Nuestros datos confirman su seguridad. También hemos podido comprobar que nuestro sistema de calidad nos ha permitido estudiar las incidencias, establecer las medidas correctoras y comprobar su eficacia.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 256

## COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS ANALÍTICOS EN LA DETERMINACIÓN DE VSG

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: Isabel Linares Dickler, Ana Belén Rodríguez Martín, Cristina Garrido López, Ángel Miguel García Lora e Irene Romero García

Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen de las Nieves

Provincia: Granada

Correo electrónico del primer firmante: isa80ld@hotmail.com

### Introducción:

La VSG es la velocidad a la que sedimentan los hematíes en el plasma, y depende de su mayor o menor capacidad para la agregación, que a su vez, depende de la presencia de ciertas proteínas (aglomerinas), que neutralizan las cargas negativas de los hematíes y el efecto de repulsión entre ellos.

VSG es un test no específico que puede ser utilizado para detectar un amplio rango de enfermedades y para monitorear el curso evolutivo de ciertas enfermedades crónicas como los procesos inflamatorios crónicos o la respuesta a la terapia, por ejemplo con citostáticos (enfermedad de Hodgkin, linfomas y mieloma múltiple). Constituye uno de los tests más utilizados como screening en el laboratorio clínico.

En nuestro servicio la mayoría de peticiones de VSG van acompañadas de muestra para la realización del hemograma, recientemente han surgido equipos que determinan este parámetro en tubo de EDTA, lo que permitiría simplificar el tiempo en la fase preanalítica.

### Material y métodos:

Empleamos 241 muestras, procedentes de pacientes hospitalizados o citados para análisis de rutina. Las muestras extraídas en citrato se procesaron por el autoanalizador VES-MATIC 60 (Menarini Diagnostics) empleado como método de referencia y las muestras extraídas en EDTAK3 como anticoagulante en el autoanalizador Test1 TH (ALIFAX de IZASA). Con los resultados obtenidos se realizaron estudios de correlación.

### RESULTADOS:

El índice de Katz es la media de la suma de la VSG a la primera hora y VSG a la segunda hora, lo que supuestamente le conferiría mayor sensibilidad y especificidad ante determinadas enfermedades. Comparamos VSG (1ª hora) por ambos métodos con el "Índice de Katz" obtenido empleando el método de referencia (VES-MATIC 60 de Menarini), se realizó el estudio utilizando 241 muestras de pacientes con patología y sin patología. Se obtuvieron los siguientes resultados

N= 241

1) Correlación entre TEST1 TH / I. Katz:  $y = 0.3472X + 5.4242$   $R^2 = 0.8674$

2) Correlación entre VES-MATIC 60 / I. Katz:  $y = 0.7846X + 3.3468$   $R^2 = 0.9795$

3) Correlacionando directamente VSG (1ª hora) entre ambos métodos, los resultados obtenidos son:

N= 241

$Y = 0.948x + 2.6271$   $R^2 = 0.8869$

### CONCLUSIONES

Hemos obtenido una satisfactoria correlación para VSG (1ª hora) entre los dos métodos ( $r = 0.9418$ ) y la correlación de ambos con el índice de Katz es similar.

El método TEST1 TH emplea además del tubo de EDTAK3, la misma gradilla que el analizador hematológico utilizado en nuestro servicio para la hematología de rutina, simplificando así el tiempo en la preanalítica y facilitando el flujo del trabajo.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 278

## INACTIVACIÓN DE PATOGENOS EN MEZCLA DE PLAQUETAS

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: Tamara Álvarez Llavona, Monserrat Prieto Zapico, Alejandra Fernández Venegas, Jose Luis Lema Díaz; Dra. Carmen Muñoz Turrillas; Dr. Fernando San Román

Centro de trabajo: Centro Comunitario de Sangre y Tejidos del Principado de Asturias

Provincia:

Correo electrónico del primer firmante: maralla301@hotmail.com

### RESUMEN:

TÍTULO: INACTIVACIÓN DE PATOGENOS EN MEZCLA DE PLAQUETAS LEUCODEPLECCIONADAS

### INTRODUCCION:

En la actualidad existen técnicas altamente sensibles y específicas para el cribado de virus transmisibles por transfusión. Sin embargo la mayoría de estas técnicas aplican una estrategia reactiva, es decir, actúan frente a agentes ya conocidos, dejando al margen por tanto otros agentes de infección transfusional como pueden ser los debidos a Patógenos nuevos o emergentes y a la contaminación Bacteriana, entre otros. Para evitar o minimizar este tipo de riesgos es necesaria la aplicación de estrategias proactivas como la Inactivación o Reducción de Patógenos.



Las plaquetas por sus condiciones de almacenamiento a 20-22°C, constituyen un medio ideal para que las bacterias proliferen y puedan alcanzar magnitudes altamente patógenas. Por ello y para aumentar la seguridad transfusional, nuestro centro ha incluido en sus procedimientos de rutina la inactivación de la mezclas de plaquetas y de las Plaquetas de Aféresis.

#### MATERIAL Y METODOS:

Para la Inactivación utilizamos el sistema INTERCEPT blood system de CERUS basado en un tratamiento fotoquímico con amotosaleno (S-59) en combinación con luz ultravioleta.

El proceso se realizará de la siguiente manera:

1. Tras la formación de las mezclas y después del período de reposo requerido se procederá a su inactivación. El material necesario es el Kit de procesamiento proporcionado por CERUS. Dicho Kit contiene el amotosaleno indispensable para la inactivación y las bolsas satélite que se usarán en las diferentes fases del proceso. Fases:

Paso 1. Conexión del concentrado de plaquetas al Amotosaleno y trasvase a la primera bolsa.

Paso 2. Iluminación (duración aproximada 5 minutos). Dicha iluminación hará que el amotosaleno se active, impidiendo la replicación del ADN.

Paso 3. Trasvase a la segunda bolsa Dispositivo de adsorción para eliminar los productos residuales

Tiempo de agitación con el dispositivo de adsorción (mín. de 4 y máx. de 16 horas para las unidades de volumen de 255ml a 325ml; mín. 6 y máx. de 16 horas para volumen de 300ml a 420ml)

Paso 4. Trasvase y filtrado a la bolsa final para su posterior almacenamiento.

#### RESULTADOS:

Muestras: 228 Período 3 meses	Resultados anteriores a la Inactivación (I)	Resultados con el proceso de inactivación instaurado (II)
Volumen medio	380,7ml	331,3ml
Recuento plaquetario	3,49 x 10 <sup>11</sup>	3,16x 10 <sup>11</sup>
pH	7,10	7,04
Cultivo Bacteriológico	100% negativo	100% negativo
Inspección Visual	100% presencia de remolino	100% presencia de remolino
Desechadas caducadas	20,25%	6,44%

(I) Controles de Calidad anteriores a la inactivación realizados en el Día 5 de vida de las plaquetas.

(II) Controles de Calidad posteriores a la inactivación realizados en el Día 7 de vida de las plaquetas.

#### CONCLUSION:

Además de obtener un producto más seguro para la transfusión podemos observar que los criterios de aceptabilidad son buenos transcurridos 7 días de almacenamiento de la mezcla de plaquetas lo que facilita una mejor gestión de las existencias, disponiendo de 2 días más para su distribución a los hospitales, dato que se refleja en la disminución de unidades desechadas por caducidad.

Ya que contamos con técnicos altamente cualificados y que el procedimiento de inactivación es parecido al que ya se realizaba en el plasma no supuso ningún problema de adaptación instaurarlo.

comparando los datos obtenidos con la lectura del frotis de sangre periférica por parte del SYSMEX XE 2100

#### MATERIAL Y METODOS:

Se analizan cien muestras de rutina subsidiarias de revisión de frotis de sangre periférica según norma C.A.R del laboratorio, la extensión y tinción se realiza automáticamente en el Sysmex SP 1000, el cual imprime el código de barras en el porta, a continuación se pasan a lectura por Cella-Vision, validándose los resultados por los TEL y pasando los nuevos automáticamente al LI, garantizando la trazabilidad del hemograma.

El recuento plaquetario estimado por el Cella-visión se compara con el obtenido por el Sysmex XE 2100 mediante lectura con métodos de óptica e impedancia. Del mismo modo se estudian las causas de revisión.

Causas de revisión: 18 Trombopenias, 14 Leucocitosis, 15 Neutrofilias, 17 Linfocitosis, 14 Monocitosis, 7 Blastos.

14 Gran Inmaduros, 1 basofilia.

Total revisiones: 100

#### RESULTADOS:

Los estudios de regresión dan como resultado una buena concordancia en segmentados y linfocitos y adecuada en el resto de las series, aunque en monocitos y basófilos se observan pendientes superiores a 1,4 lo que nos indica que existe un error sistemático. Las pendientes superiores a 1,4 en basófilos se deben a que el analizador SYSMEX XE 2100 detecta menos basófilos que el CELLAVISION, siendo más correcta la lectura de estas células en el CELLAVISION; respecto a la pendiente de los monocitos podemos decir que el SYSMEX lee como monocitos a linfocitos estimulados y el CELLAVISION los lee correctamente, es decir como linfocitos.

En cuanto al estudio de correlación por el método Passing-Bablok podemos decir que existe una adecuada correlación en los segmentados índice 0,9161 y = -1,7814+1,0708 P >0,10 linfocitos índice 0,9488 y = -3,6576+1,0472x P >0,10 monocitos índice 0,7400 y = -4,3500+1,4770x P > 0,10 eosinófilos índice 0,7417 y = -0,2175+1,0193x P > 0,05 y una mala correlación en cuanto a los basófilos con un índice de 0,25 y = -0,3333+1,6667x P < 0,01 debido a las diferentes lecturas entre los dos aparatos como se indicaba en el caso del estudio de regresión.

#### CONCLUSION

El aparato CELLAVISION DM96 de ROCHE DIAGNOSTIC no es un aparato de medida. Consta de un microscopio, LCD de alta definición y ANN ( red neurológica artificial ) que descompone electrónicamente la fotografía de la célula ( R;G;B ) compara con miles de células en su base de datos, núcleos, citoplasma, markets y preclasifica y que junto a la validación técnica por parte de los TEL da unos resultados adecuados comparados con los del SYSMEX XE 2100,resultados almacenados en una base de datos pudiendo ser visualizados en cualquier momento sin necesidad de realizar un nuevo frotis. Podemos decir que es un buen aparato para su uso en el laboratorio clínico, ya que muestra una buena concordancia en cuanto a la fórmula leucocitaria y al recuento plaquetar en muestras patológicas, si bien hay que validar cayados y células sin identificar.

Las trombopenias son la principal causa de revisión en los frotis de sangre periférica corrigiendo en la mayor parte de las veces debido a la presencia de plaquetas gigantes y de agregados plaquetares.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 307

#### ANEMIA DEL ANCIANO EN GIRONA: COMPARACIÓN CON DATOS BIBLIOGRÁFICOS.

Trabajo de: Hematología

Autor/a/s: MARGARITA LLAUDET IRANZO, ANA MARIA DIAZ ESPINOSA, LIDIA RAMIREZ MARIN, SANDRA ARIAS BOOK, MARINA FONTAN COLOM

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARI DE GIRONA DR. JOSEP TRUETA. ANALISIS CLÍNICOS.

Provincia: GIRONA

Correo electrónico del primer firmante: annadies@hotmail.com

#### Introducción:

Para algunos autores nos encontramos ante una anemia del anciano si el valor de la Hb es inferior a 11,0 g/dl. Hasta nuestro actual conocimiento, el envejecimiento es un proceso gradual, y su inicio es arbitrario. Clásicamente, se asume que éste empieza a los 65 a. En los hombres y mujeres sanos, el nivel de hemoglobina (Hb), el recuento eritrocitario, el Hto. y los parámetros hematimétricos son constantes hasta los 60-70 a. La anemia es más habitual en mayores de 70-75 a. y aumenta con la edad, a la vez que disminuye la diferencia entre sexos. Los factores que justifican estos valores de Hb más bajos son la disminución de las reservas eritropoyéticas con descenso de los progenitores eritroides de la médula ósea, el déficit de vit. B12 y/ó fólico, disminución de la ingesta, enfermedades inflamatorias crónicas, IRC o la hemorragia crónica.

#### Objetivo:

Comparar los datos hallados en la literatura sobre la anemia en el anciano y los encontrados al realizar un estudio con una muestra representativa de nuestra población anciana.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 285

#### COMPARACION LECTURA FROTIS SANGRE PERIFERICA EN SYSMEX Y CELLA VISION

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: HERNANDEZ ASENSIO PILAR, MIRANDA ALFARO GLORIA, ANDRES CERCADILLO ANA, ALONSO ONTAÑON MARIA, QUESADA GARCIA Mª JOSE, AMO CHECA Mª ANGELES

Centro de trabajo: COMPLEJO HOSPITALARIO DE SORIA HOSPITAL SANTA BARBARA

Provincia: SORIA

Correo electrónico del primer firmante: pilarhas@hotmail.com

#### INTRODUCCION:

En nuestro laboratorio, totalmente automatizado, una vez recibidas y comprobadas las muestras se procede a su paso por la cadena de trabajo, la cual consta de: sistema PSM (ROCHE) dos auto analizadores SYSMEX XE 2100, y un teñidor SP 1000, y un sistema informático OMEGA 4, en el cual se han creado unas normas C.A.R que cuando se cumplen se realizan una serie de acciones de forma que los resultados que quedan fuera de rango, respecto al recuento leucocitario, pasan automáticamente al teñidor SP1000, realizándose frotis de sangre periférica y tinción por el método MAY-GRUMWALD GIENSA. Se procede, a continuación, a la lectura del frotis mediante analizador hematológico Cella-Vision, sistema automático que realiza el diferencial leucocitario, cálculo de plaquetas y morfología eritrocitaria.

#### Objetivo:

El objetivo del estudio es evaluar el funcionamiento del CELAVISION en nuestro laboratorio,

## Material y métodos:

Datos obtenidos de una muestra escogida al azar formada por 250 individuos (todos ambulatorios) > de 65 a. que consideramos representativa de nuestra población anciana. De ellos, 157 (62.8%) son mujeres y 93 (37.2%) hombres. Con independencia del sexo, el rango de edad es de 66 a 98 a. (promedio 82.2). En hombres el rango es de 67 a 98 a. (promedio 81.2) y en mujeres es de 66 a 98 a. (promedio 82.7). Con fines preventivos y/o diagnósticos, a todos se les ha realizado un hemograma y determinado entre otros parámetros, niveles de hierro, folatos séricos y vit. B12.

Métodos utilizados. Hb Método colorimétrico automatizado en el Coulter LH 750. Hierro. Método Ferrocina automatizado en el Cobas 711 (Roche). Folatos y vit. B<sub>12</sub>. Método: ECLIA automatizado en el E170 (Roche).

Valores normales en > a 65 a. son: Hb  $\geq$  11 g/dl, Hierro  $\geq$  37-145  $\mu$ g/dl, Hierro B& 59-158  $\mu$ g/dl, Folatos séricos 3.8-16 ng/ml y vitamina B12 191-663 pg/ml

## RESULTADOS:

Si tomamos como criterio diagnóstico de anemia niveles de Hb < 11 g/dl, hallamos que 68 (27.2%) de los 250 pacientes presenta anemia. Sexo. Por sexos, presentan anemia 18 hombres (26.5%) y 50 mujeres (73.5%). Edad. El rango de edad de los hombres con anemia es de 69 a 94 a. (promedio 82.8), mientras que en las mujeres es de 67 a 95 a. (promedio 83). Factores esenciales en la eritropoyesis. En hombres con anemia el valor de Hb oscila entre 6.7 y 10.9 g/dl (promedio 9.5 y mediana 9.8) y en las mujeres se hallan entre 6.1 y 10.9 g/dl (promedio 9.6 y mediana 10). El rango de valores del hierro, en mujeres con anemia se sitúa entre 11 y 36  $\mu$ g/dL (promedio 24.1 y mediana 24.5) y en hombres entre 13 y 55  $\mu$ g/dl (promedio 40.3 y mediana 49.5). El rango de concentraciones de vit. B12 y folatos séricos en mujeres con anemia es de 87.71 a 177.4 pg/mL para la B12 (promedio 114.6 y mediana 107.3) y de 2.93 a 3.69 ng/ml para los folatos (promedio 3.45 y mediana 3.5). En hombres, los valores de B12, se hallan entre 72,68 y 149 pg/ml (promedio 135 y mediana 149.9) y los de los folatos entre 2.71 y 3.67 ng/ml (promedio 3.3 y mediana 3.5). Casos y porcentaje de déficits El nº de casos de mujeres con anemia y ferropenia es de 19 (17%) y en hombres de 15 (83.3 %). El nº de casos de mujeres con anemia y déficit de B12 es de 8 (15%) y en hombres es de 6 (28%). El nº de casos de mujeres y hombres con anemia y déficit de folatos es de 0 casos (0%). El nº de casos de mujeres con anemia y déficit de Fe y vitamina B12 es de 5 (9.6%) y, en hombres es de 4 (22 %). El nº de casos de hombres y/o mujeres con anemia y déficits de Fe y folatos y/o déficits de Fe, vit. B12 y folatos es de 0 (0 %).

Etiopatogenia. Se han revisado las historias clínicas de los pacientes para establecer las causas de las anemias destacando los trastornos crónicos.

## CONCLUSIONES:

1.- Edad y sexo.

1.1.- Coincidimos con la bibliografía consultada en que la anemia del anciano es más frecuente en edades mayores a los 70-75 a. y aumenta con la edad (Edad promedio de hombres con anemia 82.8 a. y en mujeres 83 a.).

1.2.- En la misma bibliografía, se afirma que la diferencia es menos marcada entre hombres y mujeres a medida que avanza la edad. Si bien es cierto que en el grupo estudiado el 63% son mujeres y el 37% hombres este dato no se constata en este estudio pues la relación anemia en hombres/mujeres es de 1/3.

2.- Factores carenciales como causa de anemia en población anciana.

2.1.- La ferropenia (atribuible a diferentes causas) como causa directa de anemia es más frecuente en hombres.

2.2.- El porcentaje de pacientes con déficit vit. B12 como causa de anemia es mayor en hombres en contra de lo que podría esperarse, tanto más cuanto en el grupo de las mujeres había casos de patología psiquiátrica que podrían fácilmente ser causa de malnutrición y falta de aporte de esta vitamina.

2.3. El déficit combinado de hierro y B12 es más frecuente en hombres.

3.- Etiopatogenia.

3.1.- Al revisar las historias clínicas de los pacientes, destacamos que la causa principal de anemia son los trastornos crónicos y los déficits de factores esenciales.

3.2.- En cierto nº de casos no puede realizarse la clasificación etiopatogénica.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 322

## COMPARACIÓN DE DOS REACTIVOS EN EL DIAGNÓSTICO DEL FACTOR V LEIDEN

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: María Josefa Quesada; María Ángeles Amo; Pilar Hernández; Ana María Andrés; Gloria Miranda; María José Alonso.

Centro de trabajo: Hospital Santa Bárbara de Soria

Provincia: Soria

Correo electrónico del primer firmante: mjoquesada58@yahoo.es

## RESUMEN:

MUTACIÓN FACTOR V LEIDEN.

### Objetivo:

Comparar los resultados obtenidos al analizar la resistencia a la Proteína C Activada (RPCA) con un mismo coagulómetro y dos reactivos diferentes: APCR Stago y APCR

Pefakit. También hallar valores normales y patológicos para esta última técnica en nuestro laboratorio.

## PACIENTES Y MÉTODOS.

En el presente estudio se han incluido 46 muestras pertenecientes a pacientes con antecedentes de tromboembolismo venoso, abortos de repetición y sujetos sin antecedentes de enfermedad tromboembólica venosa a los que se realizó estudio por antecedentes familiares de defectos trombofílicos o bien se habían diagnosticado anteriormente de factor V Leiden heterocigoto.

Para la determinación de la RPCA se han utilizado plasma obtenido tras centrifugación de muestras extraídas con citrato sódico.

Las determinaciones analíticas se han realizado con coagulómetro STA-R de Stago con dos tipos de reactivos diferentes: APCR Stago y APCR Pefakit.

Entre las muestras analizadas hay 16 paciente portadores heterocigotos del Factor V Leiden y 5 en tratamiento anticoagulante oral.

## RESULTADOS:

“ Tablas de contingencia

	Factor V Leiden +	Factor V Leiden -	Total
RPCA +	16	0	16
RPCA -	0	30	30
Total	16	30	46

La tabla de contingencia, para ambos reactivos, es la misma (y por tanto el valor diagnóstico para ambos reactivos de APCR evaluados)

Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo: 100%. Este valor diagnóstico no se ha visto alterado en las muestras de pacientes en tratamiento anticoagulante oral con ninguno de los dos reactivos, si bien el número de estas muestras es escaso.

El valor del ratio de muestras positivas para el factor V Leiden con el reactivo APCR Pefakit (cociente entre APCR + seg y el APCR - seg) es de  $\geq$  2,8.

Los valores para el reactivo APCR Stago se consideran patológicos cuando son  $\leq$  110 seg

## CONCLUSIÓN.

La correlación entre los resultados de ambas técnicas en relación a la positividad del factor V Leiden heterocigoto ha sido total (100%), no habiéndose encontrado ninguna discrepancia entre los mismos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 347

## EVALUACION DE LA PRACTICA TRANSFUSIONAL DE CONCENTRADOS DE HEMATIES EN EL SERVICIO DE URGENCIAS DE UN HOSPITAL DE 360 CAMAS

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: HARO DIAZ ANA, DE LA CERDA LOPEZ FRANCISCA

Centro de trabajo: HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO REINA SOFIA

Provincia: MURCIA

Correo electrónico del primer firmante: pepika\_93@hotmail.com

## Introducción:

Una de las funciones del Comité Hospitalario de Transfusión es evaluar la práctica transfusional según los estándares y protocolos previamente establecidos. Desde el año 2007 contamos en el hospital con una guía de transfusión de componentes sanguíneos basada en la publicada por la SETS en el año 2006. Esta guía fue repartida por todos los servicios y se encuentra accesible en la red interna del hospital.

## Objetivos:

Valorar el cumplimiento de los estándares de la guía en la transfusión de concentrados hematíes (CH) en el Servicio de Urgencias (SU).

## MATERIAL Y METODOS:

Se han analizado las transfusiones realizadas en el SU durante 3 meses (enero-marzo de 2010). Se ha estudiado la hemoglobina pretransfusional (Hb-pre), posttransfusional (Hb-post), sexo, edad, número de CH transfundidos, motivo de la transfusión y diagnóstico. Para ello se revisaron todas las solicitudes de transfusión y la historia clínica de los pacientes transfundidos.

## RESULTADOS:

Se transfundieron 70 pacientes (34 mujeres y 36 hombres), la mediana de la edad fue 74 (33-98). Se realizaron 73 transfusiones y el total de CH transfundidos fue de 184. La mediana de la Hb-pre fue 7.3 g/dl (3.5-11) y la Hb-post 9.4 g/dl (7.1-12), la mediana de CH transfundidos por cada transfusión 2 (1-7). Sólo en 5 pacientes la Hb pretransfusional fue mayor de 9 g/dl, presentando todos ellos hemorragia activa siendo grave en 4 casos. Los motivos de transfusión fueron la hemorragia en 26 pacientes y en 47 anemia. De los 47 pacientes con anemia, 25 presentaban ferropenia con macrocitosis e hipocromía. De los 25 pacientes con anemia ferropénica, 13 eran mujeres y 12 hombres con una mediana de edad de 71 (39-90), la mediana de la Hb-pre fue 6.8 g/dl (3.5-8.7) y la Hb-post 9.3 g/dl (7.5-11.6), la mediana de los CH transfundidos por transfusión fue de 3 (2-4). Se analizaron otros factores añadidos para la indicación de la transfusión encontrando en 3

pacientes anemia sintomática, en 1 sangrado activo y en 3 una cifra de Hb-pre menor de 5 g/dl. En 18 pacientes no se detectó morbilidad añadida para requerir la transfusión de CH de forma urgente.

#### CONCLUSIONES:

Un dato importante destacado en este estudio, que posiblemente suceda en otros SU es la desviación detectada en los pacientes que presentan anemia ferropénica en los que se puede claramente reducir o impedir el número de CH transfundidos y, en los que esté indicado, estimular el tratamiento farmacológico sustitutivo. En vista a este estudio se ha realizado un protocolo para el tratamiento de los pacientes con anemia ferropénica grave en el SU para evitar la transfusión innecesaria en buena parte de esos pacientes.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 348

### APLICACIÓN DE CICLOS DE EVALUACION Y MEJORA DE LA CALIDAD EN UN SERVICIO DE TRANSFUSION SANGUINEA

Trabajo de: Hematología

Autor/a/s: CANO SAAVEDRA MARIA JESUS, HURTADO GARCIA ANA, MARTINEZ SANCHEZ JUANA M<sup>a</sup>

Centro de trabajo: HOSPITAL REINA SOFIA DE MURCIA

Provincia: MURCIA

Correo electrónico del primer firmante: gnomito7@hotmail.com

#### Introducción:

Según la ley 41/2002 de 14 de noviembre reguladora de la autonomía del paciente y el Real Decreto 1088/2005 de 16 de noviembre, el médico que establezca la indicación de transfusión deberá explicar al paciente los riesgos de la transfusión sanguínea y posteriormente solicitarle la conformidad mediante la firma del consentimiento informado para la transfusión (CIT).

#### Objetivos:

Mediante este estudio, se pretende conocer el grado de cumplimentación del CIT en este Hospital y valorar el impacto de una actuación de mejora.

#### MATERIAL Y METODOS:

Se han analizado un total de 433 historias clínicas (HC) de pacientes transfundidos en los servicios (S<sup>o</sup>) de Cirugía General, Urología, Medicina interna y Urgencias entre julio y diciembre de 2008 (210 HC) y el mismo periodo de 2009 (223 HC). Se ha estudiado la existencia o no de CIT en la HC, considerando suficiente 1 CIT por ingreso del paciente y con fecha anterior a la de la transfusión. Entre estos dos estudios se realizaron varias actuaciones de mejora. Además en el año 2009 se ha revisado el grado de cumplimentación del documento, analizando los siguientes indicadores: correcta identificación del paciente, correcta identificación del médico responsable, firma del paciente y fecha de realización.

#### RESULTADOS:

En el año 2008 tenían CIT el 45.7% de las HC analizadas, después de la actuación en el año 2009 el porcentaje de HC con CIT era del 51.5%. Se ha producido una pequeña mejora pero la diferencia no es estadísticamente significativa.

Analizando en detalle los datos del año 2009 se detectó que en los S<sup>o</sup> Quirúrgicos el porcentaje de pacientes con consentimiento informado era de 43% y en los no quirúrgicos de un 62% siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.003$ ). Los datos en cuanto al grado de cumplimentación del documento son los siguientes: falta la etiqueta identificativa del paciente en el 7% de los CIT, incorrecta identificación del médico en el 92%, falta la firma del paciente en el 82% y la fecha en el 28%.

#### CONCLUSIONES:

Existe una diferencia significativa en el grado de cumplimiento del CIT a favor de los Servicios no quirúrgicos. Tras la actuación de mejora se observa una pequeña mejoría de los datos iniciales pero insuficientes. Aunque exista CIT, en más del 90% de los documentos la cumplimentación es incorrecta. Ante estos datos consideramos necesario aplicar un nuevo ciclo de mejora más enérgico. En los S<sup>o</sup> Quirúrgicos y en concreto en la cirugía programada, hay un desconocimiento sobre quién es el médico responsable del CIT y este factor condiciona preferentemente el grado de incumplimiento en estos Servicios.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 365

### SISTEMA "TACSI" PARA LA OBTENCION DE MEZCLA DE PLAQUETAS

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: Tamara Álvarez Llavona; Monserrat Prieto Zapico; Jose Luis Lema Díaz; Lucía Onís Martínez; Dra. Carmen Muñoz Turrillas; Dr. Fernando San Román.

Centro de trabajo: Centro Comunitario de Sangre y Tejidos del Principado de Asturias

Correo electrónico del primer firmante: maralla301@hotmail.com

#### RESUMEN:

TÍTULO: SISTEMA TACSI PARA LA OBTENCION DE MEZCLA DE PLAQUETAS LEUCODEPLECCIONADAS.

#### Introducción:

Con el fin de optimizar la recuperación de plaquetas y automatizar los procesos en el fraccionamiento se ha introducido el sistema TACSI (Terumo) para la elaboración de las mezclas de plaquetas a partir de la capa leucoplaquetaria (Buffy-Coat).

#### MATERIAL Y METODOS:

El sistema TACSI para la realización de mezclas de plaquetas está diseñado para efectuar los procesos de sedimentación y separación necesarios en la elaboración de las plaquetas. El TACSI lleva a cabo la segunda separación cuya finalidad es preparar los concentrados de plaquetas.

Fases del proceso:

1. Pre TACSI: Las plaquetas se preparan a partir de la sangre total recolectada en bolsas TOP & BOTTON. Tras una primera centrifugación se sitúan las bolsas en los fraccionadores Macopress Smart produciéndose la primera separación de los componentes sanguíneos que dará lugar a la obtención de: Concentrado de Hematíes, Plasma y Buffy-Coat o placa leucoplaquetaria.

A continuación se toman 5 unidades de Buffy-Coat isogrupo para la elaboración de la mezcla. Cada Buffy-Coat contiene un volumen medio de 50 ml. La mezcla se realiza mediante la unión de los Buffy-Coat al Kit TACSI con conexiones estériles, al mismo tiempo se unirá a la mezcla la solución aditiva (MACOPHARMA SSP+) imprescindible para la conservación apirógena y estéril de las plaquetas, ya que contiene todos los componentes necesarios para el almacenamiento de las mismas a 20-22°C, con dicha mezcla se llevará a cabo el lavado de los Buffy-Coat.

Una vez efectuadas las conexiones se traspassará el contenido de los Buffy-Coat a la bolsa final del Kit TACSI y se introducirá en las cubetas del procesador TACSI.

2. Primera Fase del sistema TACSI: Centrifugación para la sedimentación de los componentes. En esta fase las diferentes células sanguíneas sedimentan debido a la diferencia de densidades.

3. Segunda fase del sistema TACSI: Separación y Filtración. En esta fase se produce la separación de las plaquetas mediante detectores ópticos que se activarán ante la presencia de hematíes evitando así que la mezcla se contamine. En esta misma fase se produce el filtrado (a través de un filtro de poliuretano) donde se quedarán los leucocitos residuales.

#### RESULTADOS:

Muestras 228	Elaboración Manual	Elaboración TACSI
Recuento Plaquetario > 3	77.5%	96%
Recuento Plaquetario Tras Inactivación >3x 10 <sup>11</sup>	53%	69% *
Fuera de Rango (Recuento <2.55x10 <sup>11</sup> )	5.26%	1.75%
Tiempo medio de elaboración (12 mezclas)	1 h.	25 min.

\* Este porcentaje se refiere a solamente aquellas mezclas que han obtenido rendimientos mayores a 3x10<sup>11</sup>; sin embargo el límite de aceptación de las plaquetas filtradas es 2.55x10<sup>11</sup>, si tomamos este dato como referencia el porcentaje aumenta llegando a ser de un 93%.

#### CONCLUSIONES:

A la vista de los resultados podemos afirmar que con la introducción del sistema TACSI se obtiene un mayor porcentaje de recuperación de plaquetas, obteniéndose muy buenos rendimientos plaquetarios. A la vez se ha conseguido reducir el tiempo de elaboración a algo más de la mitad; por lo tanto actualmente se logra un producto de mayor calidad en menor tiempo.

El sistema ha sido valorado positivamente por los técnicos en cuanto a su rapidez y fácil manejo.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 367

### ANÁLISIS DE LA RECUPERACIÓN DE PLAQUETAS Y HEMOGLOBINA CON LOS CAMBIOS INTRODUCIDOS EN EL PROCESAMIENTO DE LA SANGRE TOTAL

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: María José López, Silvia Prado, Beatriz Fuentes, Ana Carregal, María del Sol Iglesias, Fernando Rodríguez, Jose A. Varela, Marcos Vázquez, Lúcia Lourido, Teresa Barco, David Carrillo, Carina Arcas

Centro de trabajo: Centro de Transfusión de Galicia

Provincia: La Coruña

Correo electrónico del primer firmante: maria.lopez.lemos@sergas.es

#### RESUMEN:

Ante la demanda creciente de plaquetas (PQ) y la instauración de la estrategia de reducción de patógenos en concentrados de plaquetas (CP), se ha cambiado el tipo de bolsa de sangre total, destinada a la obtención de capa leucoplaquetar. En base a lo anterior ahora trabajamos con la configuración de bolsa top&bottom, igualmente el filtro para hematíes aporta mejoras en la eficiencia de la filtración. Se analizan los resultados obtenidos con esta nueva configuración.

## Material y métodos:

Las dos configuraciones de bolsas utilizadas, la anterior (top&top) y la actual son suministradas por Macopharma®, el filtro para hematíes en los dos casos es flexible, de fibras de poliéster y carga neutra. El proceso de filtración de hematíes se realiza a 20° C entre 16 y 18 horas post-extracción.

Se introdujeron ligeros cambios en el programa de centrifugación, y en el programa del fraccionador -Compomat G-4- En la configuración de bolsa actual la capa leucoplaquetar permanece en la bolsa inicial y no se desplaza.

En la primera fase de evaluación, se chequearon 130 unidades extraídas con la bolsa leucoflex LCR-Diamond, top&bottom. Se registraron pesos y volúmenes de cada componente. En concentrados de hematíes filtrado (HCF) el volumen medio fue de 257.96 ± 16.68 mL, y la hemoglobina media por unidad de 51.1 ± 4.8 gramos. En la capa leucoplaquetar o buffy coat, el volumen medio fue de 53.64 ± 2.65 mL, con un Hto del 38.76 ± 5.26 %, la cifra media de PQ 0.90 ± 0.19x10<sup>11</sup>. El volumen de plasma medio fue de 276.54 ± 15.48 mL. Las muestras para recuentos celulares se obtuvieron tras arrastrado de tubular 5-6 veces y se cuantificaron en el autoanalizador Sysmex XT-2000i.

El recuento de leucocitos residuales fue cuantificado por citometría de flujo, siendo en HCF menor de 1x10<sup>6</sup>.

## RESULTADOS:

En la tabla adjunta se reflejan los valores obtenidos en rutina- datos recogidos durante 1 año- en HCF, CPM (CP- Pool de 5 BC isogrupo) y CPMT (CP- Pool de 5 BC isogrupo tratado con reducción de patógenos) en las dos configuraciones de bolsas.

	HCF	CPM (5 BC) PQ x 10 <sup>11</sup>	CPMT (5 BC) PQ x 10 <sup>11</sup>
Top&top	Vol: 254.2 ± 18.9 mL Hb: 50.5 ± 5.7 g HTO: 59.7 ± 2.5 % n = 1105	Vol: 351.8 ± 20 mL PQ: 3.29 ± 0.38 n = 400	Vol: 325.7 ± 20 mL PQ: 3.02 ± 0.36 n = 400
Top&bottom	Vol: 260.9 ± 19.7 mL Hb: 52.5 ± 6.2 g HTO: 60.8 ± 3.4 % n = 950	Vol: 360.7 ± 19.5 mL PQ: 3.72 ± 0.45 n = 310	Vol: 334.8 ± 20 mL PQ: 3.45 ± 0.41 n = 310

## Conclusión:

Con los cambios introducidos, tipo de bolsa fundamentalmente así como algunos parámetros en el procesamiento general, se ha logrado optimizar la cifra final media de hemoglobina en HCF. Por otra parte un aumento en la recuperación de plaquetas nos permite suministrar CP terapéuticas, tratadas con reducción de patógenos, por encima de 3 x10<sup>11</sup> en más del 85% de la producción total.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 368

## ESTUDIO DE RENDIMIENTO DEL ORBISAC EN el CENTRO DE TRANSFUSIÓN DE GALICIA

Trabajo de: Hematología

Autor/a/s: Carmen Vázquez; M<sup>o</sup> Soledad García, Cristina Herranz, Carmen Goas, Eva Dopico, Azucena Delgado, Juan Guillán, Fernanda Isasi, Ángeles Alonso, Carmen Curros, M<sup>o</sup> Jesus Rey, Azucena Castrillo.

Centro de trabajo: Centro de Transfusión de Galicia

Provincia: La Coruña

Correo electrónico del primer firmante: carmen.vazquez.bertoa@sergas.es

## RESUMEN:

La utilización de máquinas automáticas para la realización de pooles de plaquetas (CP-Pool) ha sido un gran avance, no solo se han podido aumentar el número de pooles producidos de CP-Pool, sino también su calidad y, sobre todo, la estandarización y la continuidad de los resultados obtenidos.

Analizamos el rendimiento de los equipos OrbiSac® en la realización automática de los pooles de plaquetas con nuestro esquema de trabajo, realizando el lavado manual de los Buffy-Coats (BC), los pasos siguientes son llevados a cabo según las instrucciones del proveedor.

## Material y métodos:

Los pasos en la elaboración de los pooles son:

- Reposo de los BC post fraccionamiento al menos 2 horas. Las bolsas de BC se colocan en bandejas planas por grupos.
- Elaboración informática, asignación de un número de pool, compuesto por 5 BC isogrupo..
- Unión mediante sellado estéril con TSC-II Terumo®, de los distintos tubulares de BC al kit de procesamiento (bolsa para el pool de BC, bolsa final y filtro) y a la bolsa de solución aditiva (SA).
- Lavado manual de los BC con 280 ml. de SA InterSol™.
- Colocación del pool (bolsa circular, filtro y bolsa final) en el dispositivo OrbiSac®

El trabajo paso a paso lo realizamos en cadena, una persona se encarga del punto b, otra persona hace las tareas del punto c y d y una tercera persona coloca la bolsa circular pool de BC más SA- en las máquinas (OrbiSac®).

## RESULTADOS:

Hemos registrado los tiempos invertidos, que corresponden sólo a la parte de la máquina, es decir: el tiempo que lleva la colocación (punto e del apartado anterior, paso 1 de la tabla), que depende del adiestramiento del usuario, el tiempo de procesamiento en la máquina, el de la extracción de todo el kit, con el CP final, separación de la bolsa circular y finalmente la extracción del aire y toma de muestras. El registro de tiempos de cada uno de los pasos nos va a permitir comparar con otros dispositivos existentes. En la tabla adjunta se reflejan los pasos y tiempos registrados.

Paso	Descripción	Tiempo
1	Cargar equipo en OrbiSac®	40 seg/unidad
2	Centrifugación	8 Min.
3	Retirar equipo	15-20 seg/unidad
4	Sacar sire y muestra	20 seg/unidad

Con este esquema de trabajo, y disponiendo de 4 máquinas obtenemos 20 pooles/hora, si dispusiéramos de 5 aumentaríamos la obtención a 25 pooles/hora.

## Conclusión

Siguiendo la sistemática descrita, en cuanto a las tareas en cadena asignada a cada TEL y el procesamiento de CP-Pool en el equipo OrbiSac®, nos permite en el horario de turno de tarde completar la 1ª fase de inactivación de patógenos de pooles de plaquetas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 370

## TEST DE COOMBS DIRECTO EN NEONATOS DEL HOSPITAL DE BASURTO EN 2010

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: Monika Aras Ibarzabal, M<sup>o</sup> Mar Gonzalez de las Cuevas, Loreto García Lagarejos, Maite Zurbano Diaz de Mendivil y JM Beltrán de Heredia Oyarzabal

Centro de trabajo: Hospital de Basurto (Bilbao)

Provincia: VIZCAYA

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.) es consecuencia de la hemólisis producida por los anticuerpos maternos contra los antígenos eritrocitarios fetales que pasan la barrera placentaria.

## Objetivo:

Conocer la incidencia de la E.H.R.N. en el Hospital de Basurto durante el año 2010.

## MATERIAL Y METODOS:

Hemos realizado el Test de Coombs directo (T.C.D.) de la sangre de cordón de los recién nacidos remitidos por el servicio de Ginecología-Obstetricia del Hospital de Basurto.

Los T.C.D. se realizan mediante dos técnicas:

- En tarjeta Liss de Diamed-ID (Screening)
- En porta, se añade una gota de antiglobulina humana a una gota de sangre y se observa la aglutinación. Cuando se detecta un T.C.D. (+) se debe confirmar la reacción con hematíes lavados un mínimo de tres veces con suero salino isotónico para descartar una reacción inespecífica debida a un exceso de Gelatina de Warthon (tejido conectivo laxo del cordón umbilical).

## RESULTADOS:

Durante el año 2010 se obtuvieron 1459 muestras de sangre de cordón de neonatos de madres de Rh negativo y/o grupo hemático O de los cuales 1447 fueron T.C.D. negativos. En nuestro hospital tuvimos 12 casos de T.C.D. (+). Se pidieron sangre periférica de la madre y el niño para completar el estudio y obtuvimos: 8 casos de E.H.R.N. por incompatibilidad ABO; 2 casos de E.H.R.N. por anticuerpos AntiD, uno por Ac Anti E(+), Anti Jkb(+) y un caso en el que la madre era c(-) y el hijo c(+) y finalmente se le practicó una exanguinotransfusión.

## CONCLUSIONES:

Con el uso de la sangre de cordón para la realización del T.C.D. se evita una extracción sanguínea traumática para el neonato, y se consigue una respuesta rápida y sencilla en caso de incompatibilidad.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 374

## EXPERIENCIA EN EL CRIBADO SEROLÓGICO DE ENFERMEDAD DE CHAGAS EN DONANTES DE SANGRE

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: BARALLOBRE NAYA SANDRA, ATANES SOMOZA DOLORES, ABUIN OTERO ANA, GOMEZ BARRAL MELANIA, SUAREZ PEREZ ELENA.

Centro de trabajo: CENTRO DE TRANSFUSION DE GALICIA

Localidad: SANTIAGO DE COMPOSTELA

## RESUMEN:

Tras el RD 1088/2005 los centros de transfusión incorporamos un test de cribado de Chagas en los donantes de sangre y en los siguientes supuestos: nacimiento en zona endémica, hijo de madre nacida en zona endémica y recientemente en caso de estancia prolongada (más de un mes) en país endémico.

## Material y métodos:

Durante el período analizado (noviembre 2005 a diciembre 2010) se han producido 609549 donaciones de sangre en nuestra comunidad siendo 5958 las donaciones analizadas para anticuerpos antitripanosoma cruzi (0.97%) por proceder de donantes de riesgo en relación a los supuestos anteriormente citados; además se ha comparado el país de procedencia de estos donantes con los datos demográficos conocidos de otras comunidades.

A lo largo del período de análisis han sido tres las técnicas de cribado:

- ID PaGiA Chagas antibody test Diamed, un test de tipo no convencional, que utiliza dos péptidos antigénicos (Ag2 y TcE) en el período noviembre 2005 a octubre de 2007. A partir de noviembre y hasta marzo de 2009 utilizamos el mismo test reformulado: se añadió un tercer péptido (TcD).

- Desde marzo de 2009 venimos realizando el test Ortho T.Cruzi Elisa Test System, es una técnica convencional que utiliza como antígenos extractos solubles y purificados del parásito.

## RESULTADOS:

- Un total de 5958 muestras fueron procesadas, 4491 por el test IDPaGiA Chagas siendo 37 positivas para esta técnica (0.82%) no observándose diferencia en la especificidad del test al incorporar el tercer péptido siendo la especificidad de la técnica de 0.991.

De las 1467 muestras procesadas por Ortho T.Cruzi Elisa Test System sólo una fue positiva (0.07%) con una especificidad de 0.999.

- De las 38 muestras positivas por test de cribado, sólo 2 fueron confirmadas como verdaderos positivos (por técnicas de EIA, IFI y PCR en un Centro de referencia). Se trataba de dos donantes de origen boliviano.

- La distribución de donantes por país de procedencia ha sido: Venezuela (36.5%), Argentina (16%), Brasil (13%), Uruguay (13%), Colombia (8.4%), México (4.8%) y otros (8.3%).

## CONCLUSIONES:

El test EIA Ortho muestra una mejor especificidad que los test de partículas (IDPaGiA): 99.9% frente a 99.1%. La sensibilidad de ambas pruebas ha sido evaluada en diferentes organismos (en nuestro país Instituto Carlos III) siendo en particular para el EIA Ortho del 100%.

La procedencia de los donantes con donación de riesgo es diferente a la observada en otras comunidades en especial en aquellas que concentran el mayor número de inmigrantes (Madrid, Cataluña, Valencia & ). En Galicia el mayor número de donantes corresponde a países con los que existe fuerte relación por vínculos familiares de la emigración. Por el contrario los donantes de origen latinoamericano en otras comunidades proceden de Ecuador (25%), Colombia (16%), Bolivia (14%), Argentina (8%), Perú (7%) y Brasil (6.6%).

El mayor número de donantes Chagas positivo confirmado corresponde, como en nuestra experiencia a donantes nacidos en Bolivia.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 375

## COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS ENTRE UN TEST SEROLÓGICO Y UN TEST GENÓMICO EN EL ESTUDIO DE DONANTES "D-débil" POSITIVO

Trabajo de: Hematología

Autor/a/s: CASTRO FANDIÑO JOSE ANTONIO, BOTANA COUSELO CARMEN, PEREZ GONZALEZ SANDRA, ALONSO GARCIA MAR, ROCA OROSA SONIA, DEL RIO LOSADA MARIA JESUS.

Centro de trabajo: CENTRO TRANSFUSION DE GALICIA

Localidad: SANTIAGO COMPOSTELA

Provincia: A CORUÑA

Correo electrónico del primer firmante: jcastrofi@munido-r.com

## RESUMEN:

Los donantes de sangre que muestran resultados RhD negativo en las técnicas de grupaje, deben ser reanalizadas mediante una técnica para la detección del D-débil.

Desde hace algunos años incorporamos al estudio de donantes D-débil positivo un test serológico para la confirmación del D-débil así como la detección de posibles donantes D-parcial.

Mostramos los resultados de una muestra de dicho estudio comparándola con el resultado en una prueba de detección genómica (RhD, Rh CE).

## MATERIAL Y METODO

Hemos seleccionado un total de 24 muestras tipificadas como:

RhD negativo en test de tipaje ABO-D.

D-débil positivo en test de detección de D-débil (control negativo).

D-débil ó D-parcial en test Diamed de aglutinación en columna.

Test genómico Blood Chip: realizado en el laboratorio de Biología Molecular.

La técnica de estudio de grupo RhD aplicada corresponde a un test en microplaca Olympus de forma automatizada (PK-7300-Olympus) utilizando en paralelo anti-D rapid (IgM), anti-CDE y Rh control de Immucor de forma diluida (1:100).

Todas las muestras RhD negativas (CDE ó +) son reanalizadas mediante la técnica D-débil Capture-R utilizando un antisero anti-D duo (Immucor) no diluido y de forma automatizada (Galileo Immucor).

Las muestras con resultado D-débil positivo control Rh negativo son nuevamente estudiadas por Diamed D-parcial Extendido. Se trata de una técnica en columnas de gel con 12 antiseros anti-monoclonales.

El test genómico con el cual establecimos la comparación está basado en la tecnología BloodChip Progenika.

## RESULTADOS:

Del total de muestras evaluadas los resultados por el test serológico D-parcial extendido Diamed han sido:

D-débil :20

D-débil tipo 38 : 9

D-débil : 11. BloodChip : D-débil tipo I (2) , D-débil II (9)

D-parcial:4

D-parcial tipo VI : 1

D-parcial tipo V :1

D-parcial tipo DHK/DAU4 : 1

D-parcial tipo DHK : 1

El resultado del test Genómico Blood Chip fue coincidente con los datos obtenidos en la técnica serológica D-parcial Extendido Diamed

## CONCLUSIONES:

El test Extended partial RhD de Diamed nos ofrece una excelente concordancia de resultados tanto para la detección del D parcial como para D débil con respecto a la técnica genómica BloodChip de Progenika.

Es una técnica fácilmente implantable en cualquier laboratorio sin necesidad de tener un equipamiento que requiera una gran inversión económica así mismo reduce el tiempo para la obtención de resultados.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 376

## APLICACIÓN DEL CELLAVISION EN LA RUTINA DEL LABORATORIO

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: LAO BRETONES ROSA, PADROS RIBAS NURIA, CEJUDO LARA ARANZAZU, PUIG FONTANELLAS ROSA.

Centro de trabajo: CATLAB

Provincia: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: rosallao@orange.es

## Introducción:

El cellavision es un dispositivo automático que consta de un microscopio óptico y una cámara que revisa, fotografía y pre-clasifica automáticamente las células de un frotis de sangre periférica. Nuestro laboratorio (Catlab) abarca un área de referencia con una población de 80000 personas. Diariamente se reciben en la sección de hematología una media de 1850 muestras de sangre en EDTA-K3 para el análisis de hemograma. Las muestras proceden en un 90% de centros de atención primaria y en un 10% de pacientes hospitalizados.

Se procesan de manera automatizada en una cadena formada por 3 analizadores Sysmex 2100 y en el sistema informático (dos soportes informáticos: EYRA yPSM (preanalytical system manager) se han definido una serie de reglas que añaden de forma automática la prueba revisión manual según valores numéricos y alarmas del analizador. Estas muestras serán revisadas al microscopio, digital-cellavision- o convencional. En nuestro laboratorio se revisa morfología de entre un 5-6% de todos los hemogramas (aprox 100 revisiones/día) y de ellas un 20-30% son derivadas para posterior revisión con microscopio óptico.

## Objetivos:

Evaluación del rendimiento, practicabilidad, sensibilidad del aparato Cellavision en la diferenciación celular. Comparación de los resultados obtenidos por la revisión del frotis en cellavision y en el microscopio óptico.

## Material y métodos:

Durante un período de 12 meses (Enero-Diciembre 2010) tres técnicos de la sección de hematología han analizado 500 muestras recogidas aleatoriamente entre la rutina habitual, y se ha realizado revisión del frotis por el Cellavision® y se ha decidido una segunda revisión por microscopio óptico, analizando el motivo por el que estaba indicada dicha revisión y los datos que se obtienen de la observación por ambos instrumentos.

SERIE BLANCA: motivos de revisión

- Leucocitosis, leucocitos >17x10e9/L)

- Neutropenia: leucocitos <3x10<sup>9</sup>/L)
  - Left shift?
  - IG (se revisan las muestras que en el analizador informan de presencia de granulocitos inmaduros >2%)
  - Linfocitosis (>5.5 x 10<sup>9</sup>/L)
  - Monocitosis (1.5 x 10<sup>9</sup>/L)
  - Alarmas Atypical Lympho?, Abn Lympho/Blast?, Blast?,
- PLAQUETAS: motivos de revisión:
- Trombopenia, cifra de plaquetas <100x10<sup>9</sup>/L)
  - Platelet clumps? Si la cifra de plaquetas del analizador es < 150x10<sup>9</sup>/L)
  - Trombocitosis, cifra de plaquetas >800x10<sup>9</sup>/L)

#### RESULTADOS:

La concordancia de los resultados entre el cellavision y el microscopio óptico para las alertas de Left shift e IG es muy buena, se destaca que en la alarma IG si el porcentaje de sospecha es <2.5% la frecuencia de células inmaduras en el frotis es muy baja y no sería necesaria la revisión manual.

El motivo principal de revisión a microscopio de una muestra analizada en cellavision es por dudas en la clasificación morfológica linfocitaria. En las alarmas linfocitarias en un porcentaje superior al 50% no se observan alteraciones valorables, un porcentaje en torno al 15% presenta linfocitos estimulados, y un porcentaje sensiblemente inferior presentaba células sugestivas de síndrome linfoproliferativo crónico.

En la revisión de plaquetas se aprecia una buena concordancia entre la cifra obtenida en el analizador y la estimada por el cellavision. En un porcentaje alrededor de un 20% se detectaron agregados plaquetarios por revisión al microscopio, y la mitad de ellas solo fueron visibles en microscopio óptico, no en el sistema automatizado.

#### CONCLUSIONES:

El microscopio digital cellavision® es un sistema rápido, preciso, reproducible de revisión de frotis.

En casos seleccionados de alteraciones morfológicas (principalmente linfocitarias) y en trombopenias, sigue estando indicada la revisión por microscopio óptico del frotis, fundamentalmente en aquellos casos en los que nos interese buscar alteraciones (células patológicas, agregados, coágulos) a lo largo de toda la extensión.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

**Número: 386**

### HIPERCOAGULABILIDAD Y BIOLOGÍA MOLECULAR EN EL HOSPITAL SEVERO OCHOA.

*Trabajo de:* Hematología.

*Autor/a/s:* Ana Belén Tortajada, Teresa Rubín, Arancha Galisteo, Elena Espartosa, Dr Ramón Rodríguez, Dra Concepción Perez- Pons

*Centro de trabajo:* HOSPITAL SEVERO OCHOA (Leganés, Madrid)

*Correo electrónico del primer firmante:* lulu\_onthe\_bridge@hotmail.com

#### RESUMEN:

El Hospital Severo Ochoa de Leganés ( Madrid), atiende a una población aproximada de 400000 habitantes de las localidades de Leganés y Fuenlabrada. Está demostrado que presentar la mutación G20210A del Factor II (Protrombina) y/o Factor V Leiden, supone un mayor riesgo de padecer ETEV (enfermedad tromboembólica venosa). Desde el año 2008, en el que se implantaron en nuestro hospital las técnicas de determinación del Factor V Leiden y la mutación G20210A del Factor II por Biología Molecular, se ha observado un progresivo aumento de la solicitud de estudios de trombofilia.

#### Objetivos:

Queremos constatar la utilidad de las técnicas de Biología Molecular, que realizamos en el laboratorio de Hematología, en la ayuda en el diagnóstico y evaluación de los pacientes con sospecha de trombofilia o diagnosticados de trombosis.

#### MATERIAL Y METODOS:

Para la determinación del Factor II Protrombina y del Factor V Leiden por Biología Molecular, se requieren:

- Eluido de ADN a partir de Sangre total anticoagulada con EDTA
- Termociclador Light Cycler (ROCHE®)
- Kit Factor II Protrombina y Kit Factor V Leiden (ROCHE®)
- EZ1®DNA blood HANDBOOK (QIAGEN®)

El test se realiza en el Light Cycler mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), para la amplificación del ADN. Se obtiene como resultado del ensayo un perfil de curva de fusión con los siguientes genotipos:

Homocigoto normal Homocigoto mutante Heterocigoto mutante

Solo se conocen interferencias en el método cuando se utiliza extracción en tubo con heparina como anticoagulante.

#### RESULTADOS:

Se han realizado 609 estudios durante los años, 2008,2009 y 2010, que según el diagnóstico se clasifican en:

ESTUDIOS FAMILIARES:134 pacientes

ETEV: 181 pacientes

OTROS\*: 294 pacientes

\*Otros diagnósticos: entre los que se encuentran patologías obstétricas, arteriopatías periféricas y central y enfermedad coronaria sin factor de riesgo vascular.

Con los siguientes resultados, siendo los genotipos encontrados los que aparecen en el cuadro:

	FV LEIDEN HETEROCIGOSIS	FV LEIDEN HOMOCIGOSIS	PT20210A HETEROCIGOSIS	PT20210A HOMOCIGOSIS	FVLEIDEN +PT20210A HETEROCIGOSIS
ESTUD. FAMILIAR	30	0	33	0	
ETEV	14	2	16	0	1
OTROS*	22	0	14	0	1

El total de pacientes positivos para alguna de las mutaciones, es de 133, distribuyéndose de la siguiente manera:

	FV LIDEN	PT20210A
ESTUDIO FAMILIAR+ETEV	39%	40.3%
OTROS	10.2	10.5

#### CONCLUSION:

El número de pacientes remitidos para estudio con diagnóstico de Estudio familiar o de ETEV (315), es superior al número de pacientes con otros diagnósticos (294). Así mismo se observa que el porcentaje de genotipos positivos para alguna de las mutaciones es superior en los casos de diagnósticos de ETEV / Estudios familiares

Se constata la rentabilidad diagnóstica de las técnicas de Biología Molecular que se realizan en nuestro laboratorio: el Factor V Leiden y la mutación G20210A del Factor II (Protrombina). Son técnicas rápidas y relativamente sencillas, de fácil implantación y se han integrado en el diagnóstico de trombofilia, resultando útiles para el clínico al mejorarse la inmediatez y evitarse el envío a Centros de referencia.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

**Número: 388**

### ESTUDIO SOBRE HEPATITIS C EN EL CENTRO CANARIO DE TRANSFUSION-ICHH

*Trabajo de:* Hematología.

*Autor/a/s:* MARIA JOSE AFONSO SUAREZ, IFARA TEJA APARICIO, ANDRES GOMEZ DE LA ROSA, ESTHER NORA ACOSTA HERNANDEZ

*Centro de trabajo:* INSTITUTO CANARIO DE HEMODONACION Y HEMOTERAPIA

*Provincia:* S/C TENERIFE

*Correo electrónico del primer firmante:* agomrosa@gobiernodecanarias.org

#### INTRODUCCION:

Los laboratorios de banco de sangre tienen que realizar una batería de pruebas según Real Decreto 1088/2005, de 16 de septiembre. Una de las pruebas es la determinación de Hepatitis C, para ello se realizan tres tipos de pruebas: técnica de screening, confirmatorio y biología molecular.

#### Objetivos:

- Importancia de la utilización de una técnica de serología y una de biología molecular en el screening rutinario de las donaciones de sangre.
- Demostrar la necesidad de la utilización de ambas técnicas.

#### MATERIAL Y METODOS:

Los datos del estudio se extraen de los resultados de Hepatitis C de todas las donaciones (268.465) durante el periodo 2007-2010.

— Técnicas de Screening:

- VITROS HCV: es un inmunoensayo de quimioluminiscencia in-vitro para la detección cualitativa de anticuerpos de inmunoglobulina G a virus de la hepatitis C, en suero o en plasma humano.

- Otro HCV 3.0 ELISA test system save potenciado es un inmunoensayo enzimático cualitativo para la detección in-vitro de anticuerpos frente al virus de la hepatitis C en suero o plasma humano.

- Técnica de confirmación:

- RIBA HCV 3.0 SIA es un ensayo en tira inmunoabsorbente para la detección de anticuerpos frente a los virus de hepatitis C en suero o plasma humano.

- Técnica de Biología Molecular (NAT):

- Ensayo in-vitro cualitativo de amplificación de ácidos nucleicos, para la detección de ARN VIH-1, ARN VHC, ADN VHB, en muestras de suero y plasma humano.

#### RESULTADOS:

	2007	2008	2009	2010
Total donaciones	62143	66363	70502	69457
Positivos Serología	3	11	11	6
Positivos Serología y NAT	32	35	25	29
Positivos NAT	1	0	0	0
Total positivas Hepatitis C	36	46	36	35

## Conclusión:

Se demuestra que es necesario hacer las dos técnicas de forma complementaria para conseguir una mayor seguridad transfusional. Utilizando las pruebas de forma individual no se hubiera detectado 31 casos de donaciones con serología en hepatitis C reactivas y 1 período ventana.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 393

## INVESTIGACIÓN DE ANTICUERPOS ANTIPLAQUETAS EN UN CENTRO TRANSFUSIÓN

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: MERCEDES GÓMEZ MARTÍNEZ, ANGUS MOYA SAN PEDRO, ELENA MORENO LÓPEZ, OLGA FERNANDEZ ALBERT, MARIA VICTORIA DE LA FUENTE JIMENO

Centro de trabajo: CENTRO DE HEMOTERAPIA Y HEMODONACIÓN DE CASTILLA Y LEÓN

Provincia: PALENCIA

Correo electrónico del primer firmante: erchuca.21@hotmail.com

## FUNDAMENTOS

La existencia de antígenos específicos en algunas glicoproteínas plaquetarias ha sido descrita por muchos investigadores. El desarrollo de anticuerpos frente a estos antígenos puede ocasionar diversas patologías. La detección de anticuerpos antiplaquetarios, tiene importancia en tres situaciones: 1) seguimiento de embarazadas con genotipo HPA-1b/1b, 2) Púrpura post-transfusional y 3) Púrpura neonatal.

## OBJETO

El objeto del presente trabajo es el análisis de los casos en los que se ha realizado estos estudios en un centro de transfusión en un año.

## MÉTODOS

Para la detección de anticuerpos antiplaquetas utilizamos dos kits comerciales: PAK-12 GTI® (ELISA en fase sólida para la investigación de anticuerpos frente a antígenos HPA y HLA de clase I) y QUICK-SCREEN GTI® (ELISA en fase sólida para la investigación de anticuerpos frente a antígenos HLA clase I).

La determinación de anticuerpos se realiza en plasma o suero del paciente a estudiar. Los casos 2) y 3) proceden de hospitales clientes, que nos envían por ser Centro de Referencia. En el caso 1) se ha realizado un estudio piloto de genotipo a las embarazadas de Valladolid haciendo un seguimiento sólo a las que tienen genotipo HPA 1b/1b.

## RESULTADOS:

Los resultados se presentan en la siguiente tabla:

TIPO DE ESTUDIO	Nº TOTAL DE CASOS ESTUDIADOS	ACs HLA I	ACs HPA
Estudio piloto embarazadas (1)	22	8	4
Púrpura post-trnsfusional (2)	15	7	0
Púrpura neonatal (3)	12	1	0

## CONCLUSIONES:

La totalidad de los anticuerpos encontrados han sido de tipo HLA- I. Se han encontrado cuatro embarazadas que han desarrollado anticuerpos anti-HPA, sin ocasionar repercusión en el feto/recién nacido

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 401

## INFLUENCIA DE LA HEMÓLISIS Y LA LIPEMIA EN LA DETERMINACIÓN AUTOMÁTICA DE LA VSG

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: ESTHER GARCÍA, ELISA RAMÍREZ, JUANA LOZANO

Centro de trabajo: UNILABS

Dirección del primer firmante: C

Provincia: MADRID

Correo electrónico del primer firmante: STR1710@HOTMAIL.COM

## INTRODUCCION:

La velocidad de sedimentación globular (VSG) es una prueba inespecífica que mide el espacio recorrido por los elementos formes de la sangre en 1 hora. Se solicita como apoyo de procesos inflamatorios, neoplásicos e infecciosos.

La determinación de esta prueba se realiza de forma automática en el Ves-Matic 200® (Menarini) mediante un sistema óptico.

All the phases of the ESR are measured thanks to an innovative optical system starting from the phase of the rouleaux formation, through the phase of sedimentation till the phase of red cells packing .

## Objetivos:

Establecer si la determinación automática de la VSG difiere significativamente de la determinación con el método Westergren en muestras con hemólisis o lipemia.

## MATERIAL Y METODOS:

- Equipo Ves-Matic 200® (Menarini)
- Pipetas para la determinación manual por el método de referencia Westergren
- Citratos para hacer la dilución adecuada de la sangre total
- 93 muestras de EDTA de los cuales 55 son muestras con hemólisis y 38 con lipemia.

## RESULTADOS:

Consideramos muestras hemolizadas aquellas que mediante el Advia® 2400 da un valor de hemólisis igual o superior a 50, y muestras lipémicas aquellas que mediante el Advia® 2400 da un valor de lipemia igual o superior a 30.

La curva de regresión lineal  $y=ax+b$  fue calculada tomando como x los valores obtenidos en el analizador Ves-Matic 200® y como y los obtenidos por Westergren.

La recta de regresión para las muestras hemolizadas es  $y= 4.375x - 10.25$ . El coeficiente de correlación de Pearson  $R^2=0.455$

La recta de regresión para las muestra lipémicas es  $y= 2.8966x - 4.5172$ . El coeficiente de correlación de Pearson  $R^2=0.6391$

## CONCLUSIONES:

A la vista de estos resultados provisionales a la espera de aumentar el tamaño muestral, cabe concluir en el caso de las muestras hemolizadas que no hay correlación entre los dos métodos ya que  $R^2 < 0.5$ , por lo que sí que habría que tener en cuenta la hemólisis como factor limitante para la determinación automática de la VSG por el Ves-Matic 200®.

En el caso de las muestras lipémicas sí existe una correlación entre ambos métodos aunque débil, por lo que también habrá que tenerlo en cuenta a la hora de la determinación automática.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 404

## HEMOVIGILANCIA EN EL HOSPITAL DE VILADECANS: ANÁLISIS DE LOS ÚLTIMOS CUATRO AÑOS.

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: Teresa Albet Domenech, Teodora Lucia Rubio Campos, Raquel Robles Sanchez, María del Carmen García Parra

Centro de trabajo: HOSPITAL DE VILADECANS

Provincia: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: teresaalbe@gmail.com

## Introducción :

Se define como hemovigilancia la detección y registro de todos los efectos adversos (errores en la administración o prescripción) y reacciones adversas (inherentes a la transfusión) derivadas de la transfusión sanguínea.

## Objetivo:

El objetivo de la comunicación es presentar los resultados de la hemovigilancia en el servicio de transfusión del Hospital de Viladecans durante los últimos cuatro años.

## MATERIAL:

Se analizan los registros de hemovigilancia de todos los componentes sanguíneos transfundidos durante los años 2007, 2008, 2009 y 2010.

## MÉTODOS:

Se mide la concentración de hemoglobina en la muestra de sangre obtenida para hacer el estudio pretransfusional. La enfermera responsable del enfermo es la que, una vez finalizada la transfusión, completa el informe i el registro de signos clínicos de posibles reacciones transfusionales.

## RESULTADOS:

El número de notificaciones registradas por cada mil componentes transfundidos fue de 0.53 en el año 2007, 3.70 en el año 2008, 6.8 en el año 2009 y 11.7 en el año 2010.

Durante el año 2007 no se notificó ninguna reacción adversa y sólo un efecto adverso que corresponde a un error en la administración de componentes. En el año 2008 se notifica una reacción adversa y seis casi incidentes (errores detectados antes de la transfusión, sin efecto sobre el paciente). En el año 2009 se notificaron dos reacciones adversas, un error de prescripción, siete casi incidentes y dos transfusiones inseguras. Por último en el año 2010 se notifican diez casi incidentes, seis reacciones transfusionales y tres errores de prescripción.

## CONCLUSIONES:

- 1.- Medir la concentración de la hemoglobina pretransfusional es sencillo y muy útil como control de la prescripción y ha dado lugar a la anulación de transfusiones mal prescritas.
- 2.- Con la implantación de la hemovigilancia en el hospital, ha aumentado progresivamente el índice de notificación por encima de la media de Cataluña.
- 3.- Destaca la mayor frecuencia de efectos adversos que la frecuencia de detección de reacciones adversas, al contrario de lo que ocurre en el conjunto de Cataluña.
- 4.- De los efectos adversos, los casi incidentes relacionados con la solicitud y la muestra pretransfusional son los más frecuentes, coincidiendo con los resultados del informe de hemovigilancia de Cataluña. Aunque durante el último año ha aumentado el número de casos de reacciones adversas.



**ESTUDIO DE CONTROL DE CALIDAD DE MUESTRAS DE SANGRE. PROVINCIA DE SORIA**

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: MIRANDA ALFARO GLORIA, ALONSO ONTAÑÓN M<sup>a</sup> JOSE, QUESADA GARCIA M<sup>a</sup> JOSE, AMO CHECA M<sup>a</sup> ANGELES, HERNANDEZ ASENSIO PILAR, ANDRES CERCADILLO ANA

Centro de trabajo: Hospital Santa Bárbara de Soria

Provincia: Soria

Correo electrónico del primer firmante: gmirandaalfaro50@hotmail.com

**INTRODUCCIÓN**

Con el presente estudio se pretende analizar el control de calidad de las muestras de sangre que llegan al laboratorio de Hematología del Hospital provincial Santa Bárbara de Soria, tanto desde todos los centros de salud de la provincia como del propio hospital. Se pretende analizar los errores pre analíticos: Hemogramas (EDTA), Coagulaciones, Hierros y Velocidades de Sedimentación Globular (V.S.G.), con que llegan las muestras, y su evolución desde el año 2006 al año 2010.

**Material y métodos:**

La metodología utilizada, basada en soporte informático y en soporte papel, consiste en registrar los errores, mediante una regla C.A.R. de falta muestra, muestra sin identificar, muestra coagulada, muestra insuficiente, y otros. Analizados los resultados obtenidos se busca como objetivo principal mejorar la recepción de muestras, y la reducción tanto de reactivos, como de carga de trabajo, así como, la variación de los errores pre analíticos en los últimos años.

**RESULTADOS:**

Las muestras analizadas y las incidencias acaecidas en el periodo estudiado se reflejan en la siguiente tabla:

AÑO	Prueba	Nº Muestras	Falta Muestra	Sin Identificar	M Coagulada	M Insuficiente	TOTAL INCIDENCIAS
2006	EDTA	82.254	71	10	92	11	184
	COAGULACIÓN	65.595	195	12	45	173	425
	V. S. G.	28.918	258	8	474	258	998
	HIERRO	15.615	13	2	0	0	15
2007	EDTA	82.048	98	8	100	4	210
	COAGULACIÓN	67.054	233	10	36	170	449
	V. S. G.	28.899	225	8	615	225	1073
	HIERRO	15.469	17	1	0	3	21
2008	EDTA	84.195	101	64	70	2	237
	COAGULACIÓN	70.020	280	18	43	171	512
	V. S. G.	29.536	241	30	614	241	1126
	HIERRO	15.519	13	4	0	1	18
2009	EDTA	85.605	98	19	65	3	185
	COAGULACIÓN	71.533	236	12	34	169	451
	V. S. G.	29.409	171	38	556	171	936
	HIERRO	16.449	10	3	0	3	16
2010	EDTA	83.833	103	8	77	4	192
	COAGULACIÓN	49.762	270	7	42	82	401
	V. S. G.	26.098	180	30	404	290	905
	HIERRO	17.237	14	1	0	4	19
TOTAL	EDTA	417.935	471	109	404	24	1.008
	COAGULACIÓN	323.964	1.214	59	200	765	2.238
	V. S. G.	142.860	1.075	114	2.663	1.185	5.038
	HIERRO	80.289	67	11	0	11	89
TOTAL GENERAL		965.047	2.828	294	3.267	1.984	8373

Observando la tabla de resultados se puede destacar lo siguiente:

Se han obtenido 8.373 incidencias en total, lo que supone un 0,87 %.

El número de muestras recibidas presenta un aumento progresivo en el espacio de tiempo estudiado.

El tipo de incidencia de menor número es el de muestras sin identificar, con 294 casos..

Respecto al tipo de incidencias, a lo largo de los cinco años, la de Muestra Coagulada es la más significativa con 3.267 incidencias, lo que supone una media de un 0.34% de las muestras analizadas

El porcentaje de muestras no recibidas totales es de 0,29%. El porcentaje de muestras no identificadas totales es de 0,030%.

El porcentaje de muestras insuficientes totales es de 0,20%.

**CONCLUSIONES:**

Una primera estimación de datos, es la obtención de resultados, es un buen indicador de bajo porcentaje de muestras no recibidas y muestras no identificadas, así como los porcentajes de muestras coaguladas y de muestras insuficiente, nos coincide con los porcentajes de incidencias observados en otros estudios.

El porcentaje de incidencias, en relación al número total de muestras analizadas es del 0,87%,

Lo que indica unas condiciones pre analíticas favorables a nuestro laboratorio, que nos permite en un futuro el control evolutivo de estos indicadores pre analíticos.

**VALORACIÓN IMPLANTACIÓN PROTOCOLO T/S: RATIO TRANSFUSIONAL C.H. XERAL-CALDE**

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: F<sup>o</sup> Javier Pico Fernández; M<sup>a</sup> Jose Nuñez Ascariz; Rosa M<sup>a</sup> Rodríguez Quintana; Luisa Castro Tersado; M<sup>a</sup> del Carmen Varela Costa J.Paz Carreira

Centro de trabajo: Hospital Lucus Augusti

Provincia: Lugo

Correo electrónico del primer firmante: congresogranada2011@gmail.com

**Introducción:**

Uno de los principales problemas a los que se enfrenta el Banco de Sangre es la disponibilidad de Concentrados de Hematíes para la transfusión. Las últimas tendencias en gestión de stock intentan reducir al mínimo las reservas hemodirigidas mediante la utilización de técnicas de tipaje y escrutinio, acompañadas de prueba cruzada salina inmediata. La bibliografía existente recomienda su utilización en aquellas situaciones que el ratio solicitud/transfusión es inferior a 0.5.

**Objetivo:**

Determinación de ratios solicitud/transfusión en el Complejo Hospitalario Xeral-Calde.

Valoración de la implantación de protocolo de Tipaje y Escrutinio en el Hospital Lucus Augusti.

Valorar la eficacia del sistema tipaje y escrutinio en los procesos quirúrgicos implantados en nuestro centro.

**Material y métodos:**

Se ha procedido al estudio de 3183 solicitudes de transfusión sanguínea recibidas en el Banco de sangre del C.H. Xeral-Cade en el primer semestre de 2010 utilizando para ello la base de datos del sistema informático de Banco de Sangre NetBank. Posteriormente se procesaron, para la estadística, con el programa Excell 2007.

**RESULTADOS:**

Nº solicitudes totales 3183; 0.9% Extrema Urgencia; 7.6% Urgente; 0.39% Cirugía urgente; 27.7% transfusión en el mismo día; 23.3% reserva quirúrgica; 18.8% reserva; 21.3% Tipaje y escrutinio.

Ratio solicitud/Transfusión según tipo de solicitud: Extrema Urgencia 0.87, Urgente 0.81, Cirugía Urgente 0.79, Mismo día 0.84, Reserva 0.56, reserva quirúrgica 0.35, tipaje y escrutinio: 0.03. Ratio global de: 0.612

**CONCLUSIONES:**

De los resultados obtenidos se concluye:

- El actual sistema de Tipaje y escrutinio aplicado en determinados procesos quirúrgicos, se considera válido, puesto que su ratio es inferior al 0.03.

- No son necesarias actuaciones específicas para solicitudes de Extrema Urgencia, Urgente, Cirugía urgente, y mismo día, puesto que su ratio es superior al 0.8.

- Se debe de actuar sobre las solicitudes de reserva y reserva quirúrgica, con el fin de disminuir la inmovilización de Concentrados de Hematíes.

La elevada fluctuación del ratio de transfusiones detectado durante el estudio, en función de la técnica quirúrgica utilizada, hace necesario un estudio más en profundidad de cada uno de los procesos quirúrgicos, con el fin de su inclusión en los procesos de tiraje y escrutinio.

**BIBLIOGRAFÍA:**

- 'Quinley E.D.(1993). Immunohematology principles and practice. Philadelphia.J.B. Lippincott Company.

- Klein H.G.;Anstee D.J. (2005) Blood Transfusión in Clinical Medicine.United Kinddom. Mollison's.

- Walke.R.H (1992). Manual Técnico AABB. Virginia.AABB.

**INCIDENCIA DE ANTICUERPOS IRREGULARES EN EL C.H. XERAL-CALDE DE LUGO**

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: F<sup>o</sup> Javier Pico Fernández; M<sup>a</sup> Jose Nuñez Ascariz; Rosa M<sup>a</sup> Rodríguez Quintana;

Luisa Castro Tersado;M<sup>a</sup> del Carmen Varela Costa J.Paz Carreira  
Centro de trabajo: Hospital Lucus Augusti  
Provincia: Lugo  
Correo electrónico del primer firmante: congresogranada2011@gmail.com

#### Introducción:

Los aloanticuerpos y autoanticuerpos eritrocitarios diferentes de los anticuerpos naturales anti-A o anti-B, se denominan anituerpos inesperados o irregulares. Su incidencia es alta, afectan hasta un 38% de la población y su identificación es necesaria para lograr la compatibilidad sanguínea.

#### Objetivo:

Determinar la incidencia de anticuerpos irregulares en el área sanitaria de Lugo.

#### Material y métodos:

Se ha procedido al estudio retrospectivo de las solicitudes de transfusiones sanguíneas recibidas en el Banco de Sangre del C.H. Xeral-Calde durante el año 2010. Para ello se ha utilizado la base de datos del programa Net-Bank del Banco de Sangre. Los estadísticos se han desarrollado con el programa informático Excell 2007.

#### RESULTADOS:

Se han recibido en el año 2010 6587 solicitudes de las cuales 308 tenían escrutinio de Anticuerpos Irregulares positivo 308(4.67%). El 75.99% se correspondía con aloanticuerpos (83.3% simples y 16.7% múltiples) y el 21.95% con autocanticuerpos (88.1% simples y 11.9% múltiples). El 2.06% presentaban alo y autoanticuerpo combinados.

Frecuencia de aloanticuerpos: Anti-E:27.7%; Anti-C:13.67%; Anti-K:12.82%; Anti-D:11.96%; Panaglutinina:7.26%; Anti-M:4.27%; Anti-c:3.41%; Anti-e:2.99%; Anti-Jka:2.13%; otros:14.52%.

Frecuencia de Autoanticuerpos: Panaglutininas:65.67%; Autoanti-C:11.94%; Autoanti-E:8.95%; Autoanti-e:4.47%; otros: 8.95%.

El 85.89% de los anticuerpos detectados son del tipo IgG.

#### CONCLUSIONES:

- La incidencia de aloanticuerpos es muy superior a la de autoanticuerpos, en probable relación con la transfusión de hemoderivados.

- Los anticuerpos más frecuentes corresponden a anticuerpos frente a antígenos del sistema Rh.

- La elevada prevalencia de anticuerpos tipo IgG, hacen recomendable el uso restrictivo de transfusión de hemoderivados en mujeres en edad fértil.

• A la vista de los resultados obtenidos y observando la elevada prevalencia de anticuerpos tipo IgG, dirigidos contra antígenos del sistema Rh, se recomienda la transfusión de sangre isogrupo con fenotipo Rh compatible en el caso de una mujer en edad fértil.

#### BIBLIOGRAFÍA:

1 Quinley E.D.(1993). Immunohematology principles and practice.Philadelphia.J.B. Lippincott Company.

Klein H.G;Anstee D.J. (2005) Blood Transfusión in Clinical Medicine.United Kinddom. Mollison's.

Walke.R.H (1992). Manual Técnico AABB. Virginia.AABB

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 410

### IMPLANTACIÓN DE STOCK EN BANCO DE SANGRE:COMPARATIVA ENTRE MÉTODOS ACTUALES

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: F<sup>o</sup> Javier Pico Fernández; M<sup>a</sup> Jose Nuñez Ascariz; Rosa M<sup>a</sup> Rodríguez Quintana; Luisa Castro Tersado;M<sup>a</sup> del Carmen Varela Costa J.Paz Carreira

Centro de trabajo: Hospital Lucus Augusti

Provincia: Lugo

Correo electrónico del primer firmante: francisco.javier.pico.fernandez@sergas.es

#### Introducción:

La gestión y establecimiento de stock de hemoderivados en un hospital permite disminuir el índice de caducidad de hemoderivados, las transfusiones no isogrupo y el número de solicitudes de sangre urgente a los centros de referencia. La AABB establece para su cálculo 3 sistemas diferentes: promedio semanal, promedio diario y promedio cambiante. En todo los casos se añade un margen, por exceso, que permita responder a situaciones de emergencia. Para el cálculo de dicho margen no existen reglas bien definidas. Los cálculos de stock actuales no hacen referencia a las unidades reservadas no transfundidas.

#### Objetivos:

Comparar los diferentes tipos de cálculo de stock referentes a: Promedio semana, Promedio Diario, Promedio Cambiante.

Determinar el stock Ideal, mínimo y de emergencia.

Determinar el margen de exceso para situaciones de emergencia.

Calculo de probabilidad de caducidad de hemoderivados en función de grupo sanguíneo.

#### Material y métodos:

Se ha procedido al estudio de 3183 solicitudes de transfusión sanguínea recibidas en el

Banco de Sangre del C.H. Xeral-Calde en el primer semestre de 2010, utilizando para ello la base de datos del sistema informático de Banco de Sangre NetBank . Posteriormente los datos se procesaron utilizando el programa Excell 2007.

Se han determinado los siguientes Stock:

Stock ideal= PDUT+SE+ rq x r; Stock mínimo= PDTU+SE; Stock emergente: = PDTU+½ SE. Donde:PDUT: Promedio diario transfusión;SE:Stock emergencias r: Ratio transfusión; rq solicitudes reserva quirúrgica pendientes transfusión.

#### RESULTADOS:

Stock promedio semana/día:0-:1.34;0+:7.10;A-:1.56;A+:8.10;B-:0.24;B+:1.33; AB-:0.08; AB+:0.61.

Stock promedio día:0-:1.45;0+:7.38;A-:1.77;A+:8.56;B-:0.26;B+:1.46;AB-:0.08; AB+:0.65.

Stock promedio cambiante. 0-:1.49;0+:7.59;A-:1.82;A+:8.80;B-:0.27;B+:1.50; AB-:0.09; AB+:0.67.

Exceso de unidades para emergencias:0-:8; 0+:24; A-:9; A+ 27; B-:2; B+:8; AB-:2; AB+ 6.

Stock Ideal: 0-:12; 0+:46; A-:14; A+ 53; B-:4; B+:13; AB-:4; AB+ 7.

Stock Mínimo: 0-:10; 0+:38; A-:12; A+ 44; B-:3; B+:11; AB-:3; AB+ 5.

Stock Emergencia: 0-:6; 0+:20; A-:6; A+ 27; B-:2; B+:6; AB-:2; AB+ 4.

Probabilidad de caducidad: 0->0.5%;0+>0.5%;A->0.5%;A+>0.5%;B->0.5%;B+>0.5%; AB->2%; AB+: >0.5%.

#### CONCLUSIONES:

- La diferencia entre los diferentes sistemas de cálculo de stock mínimo son muy pequeñas.

- La probabilidad de autosuficiencia ante emergencias, según los stock es la siguiente: Stock ideal > a 99%, Stock mínimo >95%, Stock emergente +/- 45%.

- Se establece que los stocks calculados son adecuados puesto que garantizan la autosuficiencia de sangre en > 85% de los días, consiguiendo una tasa de caducidad inferior al 1%

#### BIBLIOGRAFÍA:

- AABB (2007). Manual Técnico AABB. Virginia.AABB.

- O.Torres (2010).Inventario de Sangre. Mejico.AMMT.

- Klein H.G;Anstee D.J. (2005) Blood Transfusión in Clinical Medicine.U.Kinddom. Mollison's.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 443

### TRABAJO CON PRUEBA CRUZADA PLAQUETAR EN UN CENTRO DE TRANSFUSIÓN

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: Olga Fernández Albert,María Victoria de la Fuente Jimeno,Mercedes Gómez,M<sup>a</sup> Angustias Moya

Centro de trabajo: CENTRO DE HEMOTERAPIA Y HEMODONACIÓN DE CASTILLA Y LEÓN

Provincia: VALLADOLID

Correo electrónico del primer firmante: oferna1n@hotmail.com

#### FUNDAMENTO:

La Prueba Cruzada Plaquetar (PCP),es una técnica que se realiza de forma rutinaria en los Centros de Transfusión. Dicha técnica, consiste en cruzar plaquetas problema (preferiblemente procedentes de aféresis, en el caso de la refractariedad plaquetar) con suero/plasma del receptor. Esta prueba está siendo fundamental para detección de casos de Refractariedad Plaquetar y en casos de Trombopenia Neonatal Aloimmune (TNA).

#### Objetivo:

El objetivo de este trabajo es analizar los casos de Prueba Cruzada Plaquetar realizados tanto para la detección de la Refractariedad Plaquetar como para la Trombopenia Neonatal Aloimmune en un centro de transfusión durante el periodo de un año.

#### METODO:

El método utilizado en el Centro de Transfusión de Castilla y León es automatizado. Se realiza en el analizador Galileo, de la casa comercial Inmucor, Es una técnica en Fase sólida que se realiza en una microplaca específica (CAPTURE-P IgG Antibodies to platelets),con unas células comerciales (Células CAPTURE-P).Para ello lo que hacemos es enfrentar el suero/plasma del receptor con las plaquetas a transfundir en el caso de la Refractariedad Plaquetar, mientras que en la Trombopenia Neonatal Aloimmune lo que hacemos es enfrentar el suero/plasma de los progenitores para la búsqueda de antígenos privados y completar así el estudio de Trombopenia.

#### RESULTADO:

En el año 2010 analizamos 7 casos de Refractariedad plaquetar y 4 casos de Trombopenia Neonatal Aloimmune, obteniendo los resultados que se muestran en las siguientes tablas:

\* Refractariedad Plaquetar.

	Pruebas Cruzadas Positivas ( No cruzaron )	Pruebas Cruzadas Negativas (Cruzaron)
PACIENTE 1	47	3
PACIENTE 2	156	14
PACIENTE 3	9	0

PACIENTE 4	3	2
PACIENTE 5	62	7
PACIENTE 6	21	16
PACIENTE 7	13	0

\* Púrpura Neonatal Aloinmune

	Resultado de la prueba cruzada
PACIENTE 1	POSITIVA
PACIENTE 2	POSITIVA
PACIENTE 3	POSITIVA
PACIENTE 4	POSITIVA

#### Conclusión:

Consideramos tras el estudio realizado, que la Prueba Cruzada Plaquetar es fundamental en las entidades anteriormente señaladas, pero debemos tener en cuenta, que ésta también nos puede dar falsos positivos en casos de altos títulos de hemaglutininas Anti-A y Anti-B (incompatibilidad de grupo donante/receptor)

Resumen Comunicación Científica - PANEL

**Número: 454**

### INTOXICACIÓN POR AMANITA PHALLOIDES Y PARÁMETROS DEL LABORATORIO.

*Trabajo de:* Hematología.

*Autor/a/s:* Sònia Sisó Ros, Juan Jose Diaz Bernal, Montse Prieto Grueso, Monica Garcia Fernandez, Esther Garcia Guantes.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Vall D'Hebron.

*Provincia:* Barcelona

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

#### Introducción:

La Amanita phalloides es una seta tóxica, responsable del 90% de las muertes por ingesta de setas. En los últimos cuatro años en nuestro país se han producido varios fallecimientos y un mínimo de seis personas han requerido un trasplante hepático como solución extrema de su intoxicación. Su sintomatología clínica se desarrolla en tres fases: fase silente (de incubación o latencia), fase digestiva (vómitos y diarreas) y fase visceral (daño hepático). La lesión hepática es la que condiciona la gravedad, el pronóstico y la mortalidad.

#### Objetivo:

En los casos más graves el trasplante hepático puede ser el tratamiento extremo y debe hacerse en una fase relativamente precoz, ya que si pasan muchos días la lesión hepática se agrava hasta el punto de impedir ya la cirugía. Por ello tendría un gran valor el disponer de parámetros analíticos con valor pronóstico precoz, para poder determinar que pacientes son los que se han de someter al trasplante. En la actualidad esta situación se da en un 5-10% de los intoxicados. La experiencia ha demostrado que las pruebas de coagulación son fundamentales en éste sentido y en especial las determinaciones de AT, FV y el TP (Antitrombina III, factor V y tiempo de protrombina). Estos parámetros son muy útiles para establecer entre el 2º y el 3er día un pronóstico fiable y poner en marcha las alertas necesarias para llevar a cabo un trasplante, si fuera necesario. El objetivo de esta comunicación es presentar un caso grave de intoxicación en el que la determinación de AT, FV y PT fue determinante en el manejo de la paciente.

#### MATERIAL Y METODOLOGIA

Se presenta el caso de una paciente que acudió a nuestro hospital gravemente intoxicada por setas y que al tercer día de su intoxicación presentaba un fracaso hepático severo. Los resultados analíticos permitieron adoptar una actitud conservadora, y la paciente se recuperó en el curso de los días siguientes.

Se efectuó una revisión de la base de datos de intoxicados por ingesta por setas en nuestro hospital.

Se efectuó una revisión de la bibliografía concerniente a estos problemas toxicológicos.

Se efectuaron las correspondientes determinaciones de parámetros de hemostasia mediante en un analizador ACL 9000 de Izasa, utilizando en el proceso:

1: Plasma citratado de la paciente.

2 : Reactivos específicos para la determinación de las pruebas: (AT, FV y TP)

#### CONCLUSION

Junto a otros parámetros predictivos como la cantidad de setas ingeridas, la precocidad de los síntomas, la insuficiencia renal inicial, la concentración de amatoxinas en orina y la presencia de ictericia, hipoglucemia y coma, los valores de AT, FV y TP a las 48/60 horas post ingesta son fundamentales para establecer el pronóstico y decidir sobre un posible trasplante hepático. Los límites habitualmente aceptados permitieron en nuestra paciente mantener una actitud expectante y evitaron un tratamiento agresivo y no exento de morbilidad (AT  $\geq$  30 %, FV  $\geq$  15 % y TP  $\geq$  30%).

Como conclusión podemos decir que del mismo modo que el diagnóstico precoz de esta intoxicación es muy importante, la solicitud de los parámetros de coagulación mencionados y la realización diligente de los mismos por parte del personal técnico de laboratorio es

fundamental para establecer el pronóstico en el curso del tercer día y plantear el trasplante de hígado antes de que sea demasiado tarde. O, como en el caso de nuestra paciente, evitar ese tratamiento extremo y no exento de riesgos.

# INMUNOLOGÍA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 019

## ESTUDIO DE PREVALENCIA DE GENOTIPOS DEL POLIMORFISMO IL-28b EN POBLACION EN POBLACION ESPAÑOLA

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* Rico López Lucía, Iglesias López Verónica, Almansa Mora Raquel, Bermejo Martín Jesús, Caro Patón Agustín, González Hernandez José Manuel

*Centro de trabajo:* Hospital Clínico Universitario Valladolid/IECSCYL

*Correo electrónico del primer firmante:* lrico@saludcastillayleon.es

### INTRODUCCION:

Los factores genéticos influyen en el riesgo de desarrollo o curso clínico de una amplia variedad de enfermedades y pueden afectar a la respuesta al tratamiento. El polimorfismo rs1297860 de la IL28B presenta un papel importante en el aclaramiento del virus de la hepatitis C tanto de manera natural como en el contexto de la terapia antiviral. En estudios recientes se ha observado que la presencia del genotipo CC (genotipo wild-type) para dicho polimorfismo se asocia con un mayor porcentaje de respuesta virológica sostenida que los genotipos CT (genotipo heterocigoto) o TT (genotipo mutado). Por ello, el análisis de los polimorfismos de la IL28B podría ser interesante para orientar al clínico en su decisión terapéutica.

### Objetivos:

Evaluar la prevalencia del polimorfismo rs1297860 de la IL28B en pacientes infectados por el virus de la hepatitis C pertenecientes al área geográfica de Valladolid.

### Material y métodos:

Se parte de DNA genómico extraído a partir de sangre total guardada a 4° C hasta la extracción (con el kit manual de Promega).

Se prepara una master mix para hacer el genotipado, para ello se necesita LMix IL28B que viene provisto de 3 controles (CC, CT y TT) y un vial que contiene los primers y las sondas. También se necesita el kit LightCycler FastStart DNA Master HybProbe en el que están el cloruro de magnesio, agua y el FastStart DNA Master.

Para evitar contaminaciones se utiliza UDG (enzima que degrada los amplicones de doble cadena que se hayan podido quedar en amplificaciones anteriores).

Una vez se haya preparado la mezcla se cargan 15 uL sobre cada uno de los pocillos de la placa que se vayan a utilizar y sobre ésta se añaden 5 uL de las muestras, los controles y como control negativo se añade agua sobre el último pocillo.

Se sella la placa, se le da un spin para que bajen los contenidos y se deja 10 minutos para que actúe la enzima UDG.

La lectura de la placa se hace en un termociclador de placa a tiempo real, en este caso es el LightCycler 480 de la casa comercial Roche, el programa de análisis se lleva a cabo en distintos programas (fase de desnaturalización, una fase de cuantificación, se hacen las curvas de melting, y por último una fase de enfriamiento).

El análisis de los resultados se hace con el mismo programa en el LightCycler 480, dependiendo de la temperatura de melting obtenida se obtendrá uno u otro genotipo, de tal manera:

Alelo T: su temperatura de melting está entorno a los 55° C.

Alelo C: su temperatura de melting está entorno a los 63° C.

### RESULTADOS:

Se estudiaron 191 pacientes infectados con el virus de la hepatitis C del área geográfica de Valladolid, los resultados obtenidos fueron 49% (94 pacientes) genotipo CT, 39% (75 pacientes) con genotipo CC, 12% (22 pacientes) con genotipo TT.

### CONCLUSIONES:

La implementación del genotipado del polimorfismo rs1297860 en la rutina diagnóstica es sencilla y aporta una valiosa información al médico que ayuda a explicar la respuesta al tratamiento combinado con interferón pegilado y ribavirina, así como a la toma de decisiones sobre el mismo.

Los resultados de este trabajo refuerzan la validez de este ensayo, por la distribución de genotipos encontrada: así, en torno a un 60% de los pacientes estudiados son pobres respondedores (CT) o malos respondedores (TT), mientras que el 40% eran pacientes buenos respondedores a priori.

El genotipado de polimorfismos responde a las necesidades de la nueva era de la medicina personalizada, que permite la toma de decisiones terapéuticas de forma individualizada

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 026

## ESTUDIO RESTROPECTIVO DEL LABORATORIO DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO NTRA. SRA. DE CANDELARIA EN LA SEROLOGIA CELIACA

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* Javier Lázaro Torres Díaz, Cesarina Rodríguez Magdalena, Concepción Beltrán Tacoronte, Franciasca Albacete Rodríguez, Coralía González González, Mª Julia Hernández Cubas

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Nª Sª de la Candelaria- Servicio: Inmunología y Alergia

*Provincia:* Santa Cruz de Tenerife

*Correo electrónico del primer firmante:* javier-lazaro@hotmail.com

### Introducción:

La enfermedad celíaca (EC) es una intolerancia permanente al gluten del trigo, cebada, centeno y triticale, en individuos predispuestos genéticamente, caracterizada por una reacción inflamatoria, de base inmune, que altera la mucosa del intestino delgado dificultando la absorción de macro y micronutrientes.

La importancia del diagnóstico precoz reside en que la instauración de una alimentación exenta de gluten consigue, no sólo la normalización del estado de salud, sino también la recuperación de la calidad de vida de los pacientes.

### Objetivo:

Analizar la demanda de estudios de enfermedad celíaca en el Hospital Universitario Ntra. Sra. de Candelaria (HUNSC) y su área de salud durante un periodo de 3 años y medio.

### MATERIAL Y METODO

Estudio observacional retrospectivo de todos los resultados de los estudios de celiaquía realizados en la Unidad de Inmunología del Servicio de Análisis Clínicos de nuestro Hospital entre el 1 de Enero del 2007 y el 30 de Junio del 2010. Los parámetros analizados fueron: Anticuerpos anti gliadina clase IgA (AGA) y clase IgG (AGG) y Anticuerpos antitransglutaminasa tisular humana clase IgA (AAtTG-A) y clase IgG (AAtTG-G). Se determinaron en muestras de suero y con un analizador Inmunocap 250 (Phadia). Los datos se obtuvieron a partir del SiL Open Lab de Abbott y se analizaron con el paquete estadístico SPSS 15.0 para Windows.

### RESULTADOS:

Se recibieron 11588 solicitudes de estudio de celiaquía. El servicio con mayor demanda fue Pediatría, seguido por Digestivo y Neurología; y en un 3,1% no se indica la procedencia. Destacar que recibimos 37 solicitudes de Urgencias y 15 de la Unidad de Medicina Intensiva. En cuanto a los resultados de los estudios de enfermedad celíaca: fueron positivos un 2,4% de AAtTG-A, un 1,3% de AAtTG-G, un 0,77% de AGA y un 0,47% de AGG. En el 78% no procedía la determinación de AGA (por la edad), en un 89% la de AGG (por la edad y el valor de IgA) y en un 74% la de AAtTG-G (por el valor de IgA). A 329 muestras les solicitaban también anticuerpos antiendomiso (AAE); 113/160 estudios positivos y 24/169 estudios negativos presentaron AAE positivo.

### CONCLUSIONES:

Los marcadores séricos son de gran utilidad como indicadores de enfermedad celíaca, si bien la biopsia intestinal sigue siendo el patrón oro para establecer el diagnóstico. Ayudan a seleccionar a los individuos con mayor probabilidad de presentar la enfermedad celíaca, siendo particularmente útiles en aquellos sin síntomas gastrointestinales, en aquellos con enfermedades asociadas a enfermedad celíaca y para el despistaje de familiares de primer grado de enfermos diagnosticados. Debe considerarse, no obstante, que la negatividad de estos marcadores no excluye definitivamente el diagnóstico, siendo necesario en ocasiones recurrir a pruebas más avanzadas, como estudio genético, cuando la sospecha diagnóstica es elevada.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 036

## DETERMINACIÓN DEL ANTIGENO LEUCOCITARIO- HLA B27

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* Loreto García Lagarejos, Belén Rodríguez Mena, Olga Frechilla Trigueros, Mª del Mar González de las Cuevas, Paloma Isusi Gorbea, Fernando Marco de Lucas, Rosa Sevilla Zarandona, José Mª Beltrán de Heredia Oyarzabal.

*Centro de trabajo:* Hospital Basurto-Osakidetza.

*Correo electrónico del primer firmante:* loreto.garcialagarejos@osakidetza.net

### Introducción:

Esta prueba detecta la presencia del antígeno leucocitario humano B27 (HLA-B27) en la superficie de las células blancas sanguíneas (leucocitos) a partir de una muestra de sangre periférica con EDTA.

Los antígenos leucocitarios humanos (HLA) son un grupo de proteínas presentes en la superficie de las células enucleadas, que ayudan al organismo a reconocer su propias células y a distinguirlas de las que no lo son. Estos antígenos HLA se dividen en clase I (A, B, C) y clase II (DR, DP, DQ), cada uno de ellos con una gran cantidad de variables. Esto genera un alto número de combinaciones, una identidad propia para cada individuo y una dificultad de coincidencia en los trasplantes.

El antígeno leucocitario humano HLA B27 se encuentra en el 5-10% de la población y se ha observado que su presencia es mayor en diferentes patologías autoinmunes. La relación más fuerte se encuentra en la Espondilitis Anquilopoyética (EA) en la que alrededor del 90% de los pacientes tienen HLA B27. En la Artritis reumatoide juvenil, aproximadamente el 80% de los pacientes son HLA-B27 positivo, el 50-80% en el Síndrome de Reiter (también conocido como artritis reactiva), el 40-70% de la Uveítis aislada aguda anterior. El HLA B27 también puede estar presente en el 50% de los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal y en otros trastornos crónicos.

A pesar de que HLA B27 no es la causa de estas patologías, existe una mayor prevalencia de este antígeno en los pacientes afectados.

#### Objetivo:

Determinar la presencia del Antígeno Leucocitario Humano (HLA) B27 por citometría de flujo multiparámetro -métrica.

#### Material y métodos:

Se han evaluado 561 muestras (294 hombres y 267 mujeres). Estas muestras (sangre con EDTA) fueron analizadas en el servicio de Hematología, sección de Inmunología del Hospital de Basurto durante el año 2010.

La técnica utilizada fue el marcado directo con anticuerpos monoclonales.

Reactivos: HLA B27FITC (Rafer), HLA-B27-FITC + HLAB7 (Beckman-Coulter)

Lisis de eritrocitos con Q-Prep (Beckman-Coulter)

Lectura por citometría de flujo (identificación celular a través de la marcación de células con anticuerpos monoclonales) con el citómetro FC500 (Beckman-Coulter), analizado con el programa CXP.

#### RESULTADOS:

Durante el año 2010 se han procesado un total de 561 muestras. El HLA B27 se detectó en 59 pacientes (10.7%). Correspondiendo 15 casos a Espondilitis Anquilopoyética (EA) (25.43%), 5 casos a Uveítis (8.47%), 3 casos a Sacroileitis (5.08%) y el resto a diferentes diagnósticos.

#### CONCLUSIONES:

La determinación del HLA B27 no es diagnóstica de ninguna patología, pero asociada a una serie de signos, síntomas y otras pruebas de laboratorio ayuda a diagnosticar o descartar enfermedades autoinmunes asociadas a HLA B27 positivo.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 037

### CORRELACION ENTRE LA CARGA VIRAL Y LA RESPUESTA INMUNE EN PACIENTES INFECTADOS POR GRIPE H1N1 PANDEMICA EN LOS PRIMEROS DIAS DE SU HOSPITALIZACION EN LA UCI

Trabajo de: Inmunología.

Autor/a/s: Rico López Lucía, Iglesias López Verónica, Almansa Mora Raquel, Bermejo Martín Jesús Fco., Mateo Paula, del Olmo Milagros, Andaluz David.

Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario de Valladolid / IECSCYL

Correo electrónico del primer firmante: lrico@saludcastillayleon.es

#### INTRODUCCION:

Un año después del surgimiento de la pandemia de gripe A H1N1, todavía se desconocen cuales son los eventos inmunológicos que distinguen a los pacientes más graves de aquellos que consiguen superar la enfermedad sin muchas complicaciones.

#### Objetivos:

El objetivo de este estudio ha sido ver la relación entre la carga viral y la respuesta del huésped.

#### Material y métodos:

Se reclutaron 23 pacientes críticos que cursaban una neumonía viral primaria por infección con el virus de la gripe pandémica A H1N1. 15 de estos pacientes requirieron ventilación mecánica (MV) y 8 no necesitaron (NMV). Además se reclutaron 15 controles sanos de edad y sexo comparables.

A todos ellos se les recogió una muestra de frotis nasofaríngeo en las primeras 24 horas de su hospitalización para descartar la presencia de otros virus respiratorios y confirmar la infección por H1N1. (RT-PCR: CDC, Atlanta, USA; Roche, Basel, Switzerland, PCR multiplex: xTAG RVP kit, Luminox-Abbott). En estas muestras también se cuantificaron los niveles de carga viral mediante una RT-PCR a tiempo real (cuya diana era el gen de la proteína M1 del virus) y se evaluó la resistencia al oseltamivir mediante RT-PCR y secuenciación de la mutación H275Y (ABI 3130XL Genetic Analyzer).

En paralelo se recogieron muestras de suero, para la detección de anticuerpos frente a la hemaglutinina (H1) del virus por inhibición de la hemaglutinación y muestras de plasma para la detección de los niveles de 27 mediadores inmunológicos mediante un inmunoensayo tipo sándwich (Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-plex Assay).

Para evaluar los perfiles de expresión génica se hizo un subestudio con 9 pacientes (4MV, 5 NMV) de los cuales se obtuvo el RNA de sangre periférica conservado en tubos PAXgene Blood RNA System (permiten estabilización y purificación de RNA intracelular). El RNA se amplificó (Illumina TotalPrep RNA amplification Kit, Ambion, Austin, TX) y se hibridó con un chip que permite analizar todo el transcriptoma humano (Illumina Human-6 v2 Expression BeadChip, Illumina, San Diego, CA). Se utilizó la plataforma y un software de Illumina para la lectura y extracción de los datos. (Illumina BeadStation 500GX, Illumina GenomeStudio V2010.1 software).

Mediante diferentes aplicaciones bioinformáticas se hizo un análisis integrado de toda la información biomédica.

#### RESULTADOS:

En los primeros momentos del ingreso en la UCI, los pacientes con un la peor situación respiratoria mostraron una mayor carga viral, lo que podría indicar un peor control del virus en los primeros momentos de la infección. Estos pacientes mostraron una mayor secreción de distintos mediadores inmunológicos, en concordancia con lo anteriormente publicado por nuestro grupo y otros investigadores. Además en el subanálisis de los perfiles de expresión génica estos pacientes más graves mostraron una elevación de la expresión de genes relacionados con rutas implicadas en la respuesta inmune innata y la replicación del virus. Cuando realizamos estudios de correlación, por primera vez en el contexto de la gripe pandémica del 2009 vimos una asociación directa de los niveles de virus tanto con los niveles de estos mediadores, como con la expresión de los genes implicados en la inmunidad innata.

#### CONCLUSIONES:

La enfermedad producida por la gripe pandémica H1N1 en el paciente crítico se caracteriza por un replicación viral descontrolada y una respuesta innata exacerbada que puede contribuir al compromiso respiratorio en estos pacientes desde los primeros momentos de la enfermedad.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 060

### PREVALENCIA DEL HSV-2 EN UNA POBLACIÓN ESTUDIANTIL

Trabajo de: Inmunología.

Autor/a/s: Marlene Correia, Christopher Ruhl, 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: marlene.cunha.acsp@gmail.com

#### Introducción:

La familia Herpesviridae es un gran y ampliamente distribuido grupo de virus de ADN. Las infecciones por el virus del herpes simplex (HSV), tipo 1 (HSV-1) y tipo 2 (VHS-2), son comunes en todo el mundo y pueden ocasionar diversos cuadros clínicos, tales como, por ejemplo, las lesiones orolabiales y el herpes genital. Único en su capacidad para establecer latencia y, posteriormente, infecciones recurrentes, el HSV es un agente infeccioso sin cura. La enfermedad causada por el HSV-2, por lo general, se asocia con el inicio precoz de la actividad sexual e se manifiesta en la región ano-genital. Varios parejas en la actividad sexual, antecedentes de enfermedades de transmisión sexual y otras lesiones genitales son factores de riesgo para su adquisición. Acerca de 70-90% no se identifican como tales, aumentando el riesgo de transmisión, así como el riesgo de contraer el virus de inmunodeficiencia humana (HIV).

El uso de condón reduce significativamente el riesgo de adquirir HSV-2 en hombres y mujeres, a pesar de la magnitud de la protección no es tan significativo en comparación con otras enfermedades de transmisión sexual.

#### Objetivo:

Evaluar la seroprevalencia del HSV-2, el comportamiento sexual y los factores de recurrencia de estas infecciones en una población estudiantil

#### Métodos:

178 estudiantes de la Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Coimbra contestaron un cuestionario sobre la historia familiar del herpes, la historia de las lesiones del herpes, la frecuencia y la duración de estas y sobre comportamientos sexuales. Han sido recogidas muestras de sangre a los participantes para la búsqueda de anticuerpos específicos por HSV-2 (ELISA).

#### RESULTADOS:

La seroprevalencia encontrada del HSV-2 fue 3,4% (6). Los participantes reportaron un promedio de 4,28 (+3,73) de relaciones románticas (sin contacto sexual) durante toda la vida, con el primero a los 15, 15 (+1,70) años. Los participantes sexualmente activos (56,18%, 100) comenzaron su actividad sexual a los 17,33 (+1,25) años y el número promedio de parejas sexuales fue 2.13 (+2.36). La mayoría de ellos (64%, 64), dice utilizar siempre el condón en las relaciones sexuales, (23%, 23) casi siempre, (8%, 8) rara vez y (5%, 5) nunca. Por lo tanto, no usar un condón aumenta el riesgo de infección por el VHS-2 en 7.667 veces (OR = 7.667, 95 = 0.645, 91.0641)

## Discusión/Conclusión:

El uso de condón en las relaciones sexuales puede reducir el riesgo de adquirir HSV, ya que las personas que no usan condón tienen mayor probabilidad de ser seropositivos para HSV-2 en comparación con los individuos que lo usan.

Palabras-Clave: HSV-2; seroprevalencia; comportamiento sexual

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 077

## RESPUESTA INMUNE RESPIRATORIA EN NIÑOS PREMATUROS AL AÑO DE VIDA Y PROFILAXIS CON PALIVIZUMAB

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* Iglesias López Verónica, Rico López Lucía, Matías Vanesa, Almansa Raquel, Bermejo JF,

*Centro de trabajo:* Hospital Clínico Universitario- IECSCYL

*Provincia:* Valladolid

*Correo electrónico del primer firmante:* viglesiasl@saludcastillayleon.es

## Introducción:

Los niños prematuros tienen una respuesta inmunológica inmadura al nacer, e incluso aquellos que no tienen ninguna enfermedad pulmonar crónica, tienen un mayor riesgo de desarrollar complicaciones graves por infección del Virus Respiratorio Sincitial durante su primer año de vida. Además, tienen mayor riesgo de padecer episodios de sibilancias y/o asma. Nuestro estudio evaluó el tratamiento con Palivizumab en la secreción respiratoria de citocinas al año de vida en niños prematuros

## Material y métodos:

El estudio contó con la colaboración de seis Servicios de Pediatría de la Comunidad de Castilla y León. El periodo que se tuvo en cuenta fue de Octubre de 2008 hasta Abril de 2009, y en dicho periodo se incluyeron a todos los prematuros nacidos en los Servicios participantes, recogiendo el Consentimiento Informado, firmado por los padres o tutores legales, siendo en total de 77.

Al año de vida, teniendo en cuenta la Edad Gestacional Corregida, se les volvió a citar para la recogida de las muestras.

Durante este periodo también se reclutaron controles a término, que también fueron citados al año, previa firma del Consentimiento Informado por parte de los padres o tutores legales. A todos los niños se les realizó un lavado nasal bilateral mediante la instilación de 2,5 ml de suero salino isotónico, teniendo en cuenta en el momento de la recogida de la muestra que ningún niño presentara signos de infección respiratoria, inflamatoria o fiebre ni que estuviera con ningún tratamiento

A la vez, también se recogieron los datos clínicos de los niños, utilizando un protocolo común para todos los centros participantes.

Las muestras recogidas se procesaron debidamente, separando el sobrenadante, el cual fue usado para la determinación de mediadores inmunológicos mediante plataforma multiplex basado en micropocillos, siguiendo las indicaciones del fabricante y usando una plataforma Luminex, con lo cual se consiguió detectar simultáneamente 27 citocinas sobre la misma muestra.

Cuando se realizaron todos los experimentos, se llevo a cabo a análisis de los mediadores inmunológicos, teniendo en cuenta varias variables, como la edad gestacional y el número de dosis que recibió el niño de Palivizumab. Se hicieron así dos grupos de niños, los que no tuvieron profilaxis, y los que sí la tuvieron (con al menos tres dosis). Los niños que habían recibido menos de tres dosis se excluyeron del estudio.

## RESULTADOS:

Teniendo en cuenta la clínica, se puede observar que la Edad Gestacional de los niños prematuros que recibieron profilaxis era menor que los que no recibieron, presentando también los primeros un peor estado respiratorio y antecedente de broncodisplasia mas frecuente que lo que no recibieron profilaxis.

En cuanto a los perfiles de respuesta inmunológica respiratoria, los niños prematuros, independientemente de haber recibido o no PVZ, tenían niveles más elevados de quimiocinas (eotaxina, IP-10), citocinas Th-1 (IFN $\gamma$ ), Th-2 (IL-13), Th-17 (IL-17), factores de crecimiento (PDGF-bb, VEGF, FGF-b, G-CSF y GM-CSF) que los niños a término.

Por otra parte, los prematuros no tratados tenían niveles significativamente más altos de la quimiocina MCP-1, la citocina inmunomoduladora IL-1RA, la citocina Th-17 (IL-6) y de la citocina Th-1 (IL-12) que los niños a término.

Además, los prematuros que no recibieron PVZ tenían niveles significativamente más altos de MCP-1, IL-1RA, IL-10, IL-12p70, VEGF ( $p<0.05$ ) y de IL-6, MIP-1 $\alpha$  ( $p<0.1$ ) que los que recibieron PVZ.

También se compararon parejas de niños con la misma edad gestacional nacidos en el mismo mes del año que recibieron o no profilaxis con Palivizumab, dividiéndolos en dos periodos distintos: invierno 2008-2009, e invierno 2009-2010. Con este diseño no se encontraron diferencias significativas en el primer periodo, pero en el segundo, los niños prematuros que tuvieron profilaxis tenían niveles más bajos de IL-1RA, IL8, IL1b, GCSF, IL-13 que no los que no la recibieron.

## CONCLUSIONES:

Se demostró que en niños prematuros, la respuesta inmunológica a nivel del árbol respiratorio se caracterizaba por una mayor secreción de mediadores que participan en la respuesta inflamatoria que en los niños a término. También se pudo observar que la

secreción de mediadores inflamatorios fue más evidente en los niños que no recibieron profilaxis. Este trabajo demuestra por primera vez la influencia de la prematuridad sobre la secreción de citocinas y citoquinas. Por otra parte, según nuestros resultados, la profilaxis con Palivizumab puede tener un efecto modulador sobre los perfiles de secreción de mediadores inmunológicos relacionados con la inflamación y asma cuando se administra teniendo en cuenta el periodo de riesgo de exposición al Virus Respiratorio Sincitial.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 080

## REALIZACION DE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS POR CITOMETRIA DE FLUJO EN PACIENTES VIH+

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* Eva Maria Garcia Huertas, Alonso Fernandez Rubiales, Vanesa Garcia Aguilera, Monica Bernal Sanchez, Pilar Jimenez Gamiz

*Centro de trabajo:* Hospital Virgen de las Nieves

*Provincia:* Granada

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

## Introducción:

La infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) ocasiona una disminución severa de células CD4+ (linfocitos T helpers fundamentalmente, y monocitos) asociándose a un estado de inmunosupresión en el organismo.

Los linfocitos T CD4+ son los responsables de orquestar una respuesta inmune adaptativa frente a las infecciones por patógenos extraños. La molécula CD4 es el receptor para el VIH en la superficie celular. Así el VIH infecta a las células CD4+, causando la muerte celular, sobre todo de los linfocitos T CD4+. Consecuentemente, el sistema inmunológico dejaría de responder adecuadamente frente al ataque de patógenos oportunistas, conduciendo al estado denominado como Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), fase más avanzada de la infección VIH caracterizada por  $<200$  células T CD4+ /mm $^3$  y la aparición de múltiples infecciones oportunistas.

El recuento de linfocitos TCD4+ nos permite, por tanto, valorar el estado de la infección y calcular cuando empezar o reiniciar el tratamiento anti-retroviral.

Por otra parte, los linfocitos T CD8+ o citotóxicos juegan un papel muy importante en la lucha frente a las infecciones virales, como la del VIH. En este caso, los linfocitos TCD8+ ejercerían su actividad citotóxica frente a las células CD4+ infectadas por el retrovirus, contribuyendo posiblemente a su destrucción.

En pacientes VIH+ se observa un aumento en el porcentaje de linfocitos T CD8+ asociado a un bajo tanto por ciento de linfocitos T CD4+, lo que se llama inversión del cociente CD4/CD8.

## MATERIALES Y METODOS:

El recuento absoluto de las diferentes poblaciones linfocitarias se realizó mediante inmunofluorescencia directa y análisis por Citometría de flujo.

Se emplea sangre periférica en tubo con EDTA y anticuerpos monoclonales frente a marcadores expresados por células del sistema inmunológico, como el antígeno pan-leucocitario (CD45), marcadores de linfocitos T (CD3+CD4+; CD8+) marcadores de linfocitos B (CD19+) y de células NK (CD16+/CD56+) marcados con 6 fluorocromos: FITC, PE, PerCp-Cy5, APC, PE-Cy7, APC-Cy7.

El preparador de muestras es el BD FACS Sample Prep Asistente II que mezcla en tubos con esferas (troucount) 20 microlitros de anticuerpo y 50 microlitros de sangre periférica dejando incubarse durante 15 minutos. Posteriormente se lisa la sangre, vuelve a incubarse 15 minutos y se procede a la lectura del resultado en citómetro de flujo BD (Becton Dickinson) FACS Canto II. La población de linfocitos se acotó mediante los parámetros SSC y CD45.

## RESULTADOS: y CONCLUSIONES:

Los resultados más relevantes obtenidos son el número absoluto y porcentaje de linfocitos totales, linfocitos T CD3+, linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+, linfocitos B, células NK y el cociente CD4/CD8.

El recuento absoluto de linfocitos TCD4+ en la actualidad es indispensable en la monitorización de la infección por el VIH ya que es esencial para determinar la fase de la infección en la que se encuentra el paciente y por lo tanto para instaurar la terapia anti-retroviral y frente a gérmenes oportunistas adecuada.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 081

## DESCENSO DEL NÚMERO ABSOLUTO DE LINFOCITOS TCD4+ ASOCIADO A UNA NEUMONIA POR PNEUMOCISTIS JIROVECHII EN EL TRANSURSO DE UNA INFECCIÓN POR VIRUS DE INFLUENZA H1N1

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* EVA MARIA GARCIA HUERTAS, ANTONIA MARIA MORENO CASARES, EVA MARIA GOMEZ MORENO, VANESA GARCIA AGUILERA, ALONSO FERNANDEZ RUBIALES, PILAR JIMENEZ GAMIZ

*Centro de trabajo:* Hospital Virgen de las Nieves

*Provincia:* Granada

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

### Introducción:

Una paciente de 49 años ingresó en Octubre de 2009 en el servicio de respiratorio de nuestro hospital presentando un cuadro de fiebre, disnea, tos e infiltrados bibasales en la radiografía de tórax. El cuadro clínico se atribuyó a una infección por virus influenza H1N1 que fue confirmada mediante el análisis molecular de una muestra de un frotis faríngeo. La paciente mejoró clínicamente tras la instauración del tratamiento específico del proceso, pero una semana más tarde sufre un empeoramiento originado por una sobreinfección por *Pneumocystis jirovecii*, detectado en el lavado broncoalveolar. La respuesta inmune del huésped se ve afectada en el curso de múltiples infecciones virales. La mayoría de las infecciones causadas por el virus H1N1 tienen un curso leve, sin embargo un pequeño número de pacientes presentan complicaciones respiratorias. Es posible que en estos casos el efecto del virus H1N1 sobre la respuesta inmune del paciente este implicado. Sin embargo, debido a su reciente aparición, la inmunopatogénesis de la infección por el virus influenza H1N1 es poco conocida. El *Pneumocystis jirovecii* es un patógeno que causa neumonías en los pacientes inmunodeprimidos. El riesgo de neumonía por *Pneumocystis jirovecii* esta asociado al descenso del número absoluto de los linfocitos TCD4+, incrementándose cuando este desciende por debajo de 200c/mpl.

### Materiales y métodos:

El recuento absoluto de las diferentes poblaciones linfocitarias se realizó mediante inmunofluorescencia directa y análisis por Citometría de flujo. Se emplea sangre periférica en tubo con EDTA y anticuerpos monoclonales frente a marcadores expresados por células del sistema inmunológico, como el antígeno pan-leucocitario (CD45), marcadores de linfocitos T (CD3+CD4+; CD8+) marcadores de linfocitos B (CD19+) y de células NK (CD16+/CD56+) marcados con 6 fluorocromos: FITC, PE, PerCp-Cy5, APC, PE-Cy7, APC-Cy7. El preparador de muestras es el BD FACS Sample Prep Assistant II que mezcla en tubos con esferas (trocount) 20 microlitros de anticuerpo y 50 microlitros de sangre periférica dejando incubarse durante 15 minutos. Posteriormente se lava la sangre, vuelve a incubarse 15 minutos y se procede a la lectura del resultado en citómetro de flujo BD (Becton Dickinson) FACS Canto II. La población de linfocitos se acotó mediante los parámetros SSC y CD45.

### RESULTADOS y CONCLUSIONES:

Durante la evolución del proceso las cifras de linfocitos totales experimentaron un descenso progresivo: desde 969 c/mpl en el momento del ingreso hasta 562 c/mpl cuando acontece la sobreinfección por *Pneumocystis jirovecii*. El análisis de las subpoblaciones linfocitarias mediante Citometría de flujo reveló que la linfopenia era generalizada, afectando a las cifras de linfocitos T CD4+ (212c/mpl), linfocitos T CD8+ (153c/mpl), y de linfocitos B (38c/mpl). No se detectaron defectos funcionales en los linfocitos T CD4+ en un ensayo in vitro de activación linfocitaria tras la estimulación con mitógenos. La linfopenia fue transitoria y las cifras de linfocitos recuperaron los niveles normales al resolverse el cuadro clínico. En el caso que presentamos el descenso transitorio y progresivo de las cifras de linfocitos T CD4 se asocia a una sobreinfección por *Pneumocystis jirovecii*. Otros autores han detectado descenso en las cifras de linfocitos T CD4+ y de linfocitos B en pacientes infectados por el virus influenza H1N1. Sin embargo, serán necesarios más estudios para establecer la asociación entre la linfopenia CD4 y la neumonía por *Pneumocystis jirovecii* en los pacientes infectados por el virus influenza H1N1. En este sentido, la determinación del número absoluto de linfocitos T CD4+ puede constituir un marcador muy útil para monitorizar el riesgo de desarrollar infecciones oportunistas e implantar la profilaxis específica.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 082

### ASOCIACION ENTRE EL TIPAJE HLA-B\*5701 Y LA INTOLERANCIA AL ABACAVIR EN PACIENTES CON VIH

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* Antonia Mª Moreno Casares, Eva Mª García Huertas, Eva Mª Gómez Moreno, Francisca Moreno Casares, Mónica Bernal Sánchez, Alba Martínez Chamorro, Miguel Ángel López Nevot.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Virgen de las Nieves

*Provincia:* Granada

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

### Introducción:

La reacción de hipersensibilidad a Abacavir (un potente inhibidor de la transcriptasa inversa) es un efecto adverso importante que limita su uso en la terapia antirretroviral y precisa un elevado grado de vigilancia clínica. Determinados haplotipos de las proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA-B\*5701) predicen, de forma muy significativa, el riesgo de hipersensibilidad a este fármaco.

El objetivo del estudio es identificar los casos que, después de desarrollar una probable reacción de hipersensibilidad a Abacavir, presentaban el alelo HLA-B\*5701.

### Material y métodos:

Muestras de sangre de 142 pacientes con VIH a los cuales se le ha extraído el DNA con el robot automático de extracción M-48 GENO

Tipaje HLA de Clase I (HLA-B) con la técnica SSO (sequence specific-oligonucleotide) con el kit de la casa comercial Oxoid.

### RESULTADOS y CONCLUSIONES:

A 142 pacientes se le administró Abacavir. Después se les realizó el tipaje HLA de Clase I, más concretamente tipaje del Locus B y se vio que 6 de los 142 eran B\*5701 positivo, y que esos mismos tuvieron síntomas gastrointestinales y fiebre.

La realización del test genético HLA-B\*5701 podría ser favorable para la práctica clínica habitual, ya que evita errores en el diagnóstico de la reacción de hipersensibilidad y permite interpretar los síntomas con más seguridad.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 087

### CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES EN UN MODELO MURINO DE ASMA BRONQUIAL

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* Isabel Mirones Aguilar, Luis Mariñas Pardo, Isabel Cubillo Moreno, Lydia Sanz Somolinos, Javier García Castro

*Centro de trabajo:* Instituto de Salud Carlos III

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* imirones@isciii.es

### Introducción:

La hiperplasia e hipertrofia del músculo liso de las vías respiratorias desempeña un papel central en la remodelación bronquial del asma mediante un mecanismo en el cual linfocitos T CD4+ activados mantienen la inflamación crónica. En este trabajo analizamos el papel dual que las células madre mesenquimales (MSCs) podrían jugar, contribuyendo al mecanismo de la remodelación y/o atenuando la inflamación.

### Material y métodos:

Se aislaron MSCs procedentes de tejido adiposo peritoneal de ratones Balb/c, que posteriormente fueron transducidas con retrovirus recombinantes para inducir la expresión permanente de proteína verde fluorescente (GFP). Se indujo asma experimental en ratones de la misma cepa, mediante instilaciones nasales de extracto de ácaros (HDM), para posteriormente transferir 300.000 MSCs transducidas vía intravenosa. Se utilizaron dos grupos control, uno reactivo (sin transferencia celular) y uno negativo (con transferencia celular pero instilado con vehículo -PBS-). Tres días después de la transferencia, se analizó la hiperreactividad bronquial a metacolina, la celularidad inflamatoria en lavado broncoalveolar (BAL) y la presencia de células GFP(+) en cortes pulmonares.

### RESULTADOS:

No se observaron diferencias significativas en la hiperrespuesta bronquial entre los ratones asmáticos con o sin infusión de MSCs, pero los recuentos leucocitarios en BAL decrecieron a los niveles basales mostrados por los controles instilados con vehículo. Se localizaron células GFP(+) en los espacios alveolares, pero no en la pared de las vías respiratorias.

### CONCLUSIONES:

Una sola dosis de MSCs fue suficientemente efectiva para reducir a niveles basales la presencia de células inflamatorias en BAL, pero no modificó la hiperreactividad bronquial. Tras tres días, las MSCs se detectaron en los espacios aéreos de los ratones con asma experimental, pero no en los grupos control, sugiriendo que el filtro pulmonar no retiene a estas células en el tiempo. Los datos

sugieren que las MSCs ejercen en el asma experimental un efecto inmunomodulador sin contribuir significativamente al mecanismo de la remodelación de vías respiratorias, dejando abierta la posibilidad de su uso terapéutico en el asma grave refractaria a los tratamientos actuales.

Financiado por el Fondo de Investigación Sanitaria & Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), GlaxoSmithKline, y SEPAR.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 090

### ESTUDIO COMPARATIVO DE LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-PEPTIDOS CICLICOS CITRULINADOS Y ANTI- VIMENTINA CÍCLICA CITRULINADA EN ARTRITIS REUMATOIDE

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* Carmen Ocaña Ureña, Mª Isabel Buitrago Melero, Esther Ocaña Pérez, Concepción Vega Vargas, Mª Pilar Merino Rivilla,

*Centro de trabajo:* Complejo Hospitalario de Jaén

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

### INTRODUCCION:

La artritis reumatoide es una enfermedad autoinmune de etiología multifactorial caracterizada por inflamación de las articulaciones y presencia de múltiples autoanticuerpos. El estudio de los anticuerpos anti proteínas citrulinadas ha adquirido gran interés debido a su alta especificidad y sensibilidad para el diagnóstico, además de que se ha demostrado que es predictor de severidad en pacientes con artritis reumatoide. Ya que el factor reumatoide

(FR), incluido en los criterios diagnósticos, es una prueba de laboratorio de baja especificidad, en los últimos años se ha desarrollado la determinación de anticuerpos que reaccionan contra proteínas citrulinadas y que originalmente fueron descritos como factor perinuclear, antikeratina y antifilagrina. Los más importantes son los anticuerpos dirigidos contra péptidos citrulinados cíclicos (anti-CCP) y contra la vimentina cíclica genéticamente modificada (anti-MCV). Se cree que el hallazgo de positividad para estos anticuerpos en los estadios tempranos de la enfermedad pueda indicar una enfermedad más agresiva, con mayor frecuencia de erosiones y un mal pronóstico a largo plazo.

#### Objetivo:

Comparar dos métodos ELISA para la determinación de anticuerpos anti-CCP y anticuerpos anti-MCV.

#### MATERIALES Y METODOS:

Se han utilizado los sueros de 43 pacientes remitidos a nuestro laboratorio desde las consultas de atención especializada del Complejo Hospitalario de Jaén para la determinación de anticuerpos anti-peptidos cíclicos citrulinados. Para la detección de los anticuerpos hemos empleado dos métodos de ELISA diferentes: Elia phadia (Immunocap 250) para la determinación de anti-CCP y Orgentec (Alegria) para la detección de anti-MCV. El estudio estadístico se realizó con el programa SPSS v15.0

#### RESULTADOS:

Los resultados obtenidos con los dos equipos mostraron resultados discordantes. De los sueros analizados, 20 fueron positivos para el anti-CCP (46,5%) y 29 para el anti-MCV (67,4%). Se encontraron 10 resultados discordantes entre ambas técnicas, en todos los casos se obtuvo un resultado positivo para los anticuerpos Anti-MCV y negativo para anti-CCP, si bien en todos los casos los valores de anti-MCV detectados fueron bajos <30 UI/ml. El coeficiente de correlación Rho de Spearman fue de 0,613 ( $p < 0,0001$ ) y el cociente Kappa de 0,553

#### CONCLUSIONES:

Los resultados obtenidos por ambas técnicas son moderadamente concordantes. No obstante, el análisis de nuestros resultados revela la existencia de resultados positivos débiles para anti-VMC que son claramente negativos para anti-CCP y para FR, por lo que pensamos que puedan tratarse de resultados falsos positivos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 140

### INCIDENCIA DE MONONUCLEOSIS INFECCIOSA EN EL AREA ADSCRITA AL C.M.E. GRANDE COVIAN (ZARAGOZA)

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* Vela Esteban, Paloma; Bailach Corral, Pilar; Oliván Felipe, Teresa; Tejero Antoñanzas, Mercedes

*Centro de trabajo:* Servicio de Análisis Clínicos H. U. "Royo Villanova" C.M.E. GRANDE COVIAN DE ZARAGOZA

*Correo electrónico del primer firmante:* pvelaesteban@ono.com

#### Introducción:

La Mononucleosis Infecciosa (MNI) surge como una sospecha clínica y es en el laboratorio dónde se confirma con la realización de varias técnicas. La detección Ag-Ac heterófilos (Prueba de Paul Bunnell) es la utilizada por nuestro laboratorio para la confirmación rápida de su sospecha. En el 90% de los casos esta patología está producida por el Virus de Epstein-Barr (VEB) según la bibliografía.

#### Objetivo:

Con este trabajo pretendemos valorar la incidencia de MNI en nuestra área de influencia y su distribución por edades: (0-12 años), (13-20 años), (21-30 años), (+ 30 años).

#### Material y métodos:

Hemos estudiado 194 muestras de sueros a las que se les solicitaba Paul-Bunnell en un periodo de 4 meses en el año 2010.

El método empleado ha sido el MONOSPOT LÁTEX, una prueba rápida y de un solo paso, de aglutinación de partículas y que sirve para la detección cualitativa y semicuantitativa de anticuerpos heterófilos. FUNDAMENTO: el látex de MONOPOST LATEX consiste en una suspensión de partículas de látex de poliestileno, de tamaño uniforme, y recubiertas con antígeno Paul Bunnell altamente purificado que proviene de membranas celulares de glóbulos rojos bovinos. El grado de pureza de este reactivo es tal que el reactivo de látex MONOPOST Látex solamente reacciona con anticuerpos heterófilos de Mononucleosis Infecciosa. Por este motivo, no se requiere de absorciones diferenciales. Las partículas de látex permiten visualizar la reacción Ag-Ac. En caso de que haya Ac. heterófilos de Mononucleosis Infecciosa en el suero o en el plasma, la suspensión de látex cambia de apariencia uniforme y una aglutinación clara se hace visible.

#### RESULTADOS:

	0 12 años	13 20 años	21 30 años	+ 30 años
Paul-Bunnell +	16	20	6	9
Paul-Bunnell -	48	34	17	44

	Ig M VCA (Epstein-Barr) -	Ig G VCA y EBNA (Epstein-Barr) +
Paul-Bunnell -	89	12

	Ig M VCA (Epstein-Barr) -	Ig M VCA (Epstein-Barr) +
Paul-Bunnell +	13	3

#### CONCLUSIONES:

- En nuestro estudio, el periodo de edad de mayor incidencia de MNI se sitúa en la franja de edad de 13 a 20 años. También observamos que esta patología se comporta como una curva que va aumentando hasta los 30 años aproximadamente y a partir de esta edad su incidencia es mínima.

- Según nuestros resultados en los 101 casos de Paul-Bunnell negativo a los que también se les ha realizado la técnica para la detección del Virus de Epstein-Barr, hemos visto que son negativos en su fase aguda, lo que nos hace plantearnos la necesidad de realizar esta segunda técnica en los casos de Paul-Bunnell negativo como una rutina.

- En nuestro caso hemos apreciado que, el porcentaje de MNI producido por el virus de Epstein-Barr es del 20% frente al 90% del de la bibliografía consultada.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 168

### DESARROLLO DE UN NUEVO TEST DIAGNÓSTICO EN UN SÓLO PASO PARA UN DIAGNÓSTICO PRECISO DE LAS CONECTIVOPATÍAS

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* María Isabel Sánchez Salazar, Begonia Zapatera Mata, Nieves Aller Llanos, Olga del Árbol del Árbol, Constantina Cuellas

*Centro de trabajo:* Complejo Asistencial Universitario de León

*Correo electrónico del primer firmante:* ecelissa@wanadoo.es

#### Antecedentes:

Los anticuerpos antinucleares (ANA) comprenden un grupo heterogéneo de especificidades considerados marcadores de conectivopatías autoinmunes (CTD). La inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre células HEP2 continúa siendo el gold standard para el screening de ANA, a pesar de ser una técnica que conlleva un moderado consumo de tiempo y de baja especificidad.

#### Objetivos:

Evaluar un nuevo test de screening para las especificidades antigénicas más frecuentemente asociadas con las CTD.

#### Métodos:

Se estudiaron mediante un nuevo test ELiA Immunocap (CTD Screen, Phadia), que reconoce de manera específica 17 de los autoantígenos más frecuentemente identificados en las conectivopatías, 135 muestras consecutivas con resultado ANA positivo (> 1/40) que correspondían a 48 pacientes con un diagnóstico previo establecido de una conectivopatía, 28 muestras de pacientes en proceso diagnóstico de conectivopatía no diferenciada y 59 de pacientes con sospecha de enfermedad autoinmune no conectivopatía. Este procedimiento fue comparado con la rutina diagnóstica habitual (IFI seguida de técnicas específicas de antígeno)

#### RESULTADOS:

La concordancia clínica en el grupo de pacientes con diagnóstico de conectivopatía establecido fue del 95,8%.

En el grupo de pacientes con una conectivopatía indiferenciada se identificaron 6. En el grupo de sueros de pacientes con enfermedad autoinmune inicialmente no conectivopatía, 11 obtuvieron un test positivo (16,6%).

#### CONCLUSIONES:

1-La concordancia entre el tests ELiA CTD screen y las técnicas de IFI es alta.

2-Algunos pacientes con títulos bajos de ANA eran ELiA CTD screen positivos, lo que sugiere que podría ser recomendable un punto de corte de ANA 1/40 por IFI para evitar falsos negativos.

3- Cuando se compara el algoritmo diagnóstico clásico, asumiendo la falta de disponibilidad habitual de datos clínicos, el nuevo test permite la identificación de nuevos pacientes positivos.

4- La determinación de ANA por IFI, seguida de el test ELiA CTD screen podría mejorar el diagnóstico inmunológico en las conectivopatías.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 204

### REACCION ALERGICA POR ALFORFON

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* SOFIA SANCHEZ PASTOR, MARIA JESUS PAGOLA DEL SANTO, MARIA SOCORRO GARCIA MARTIN, MARIA TERESA CABALLERO

*Centro de trabajo:* LABORATORIO DE INMUNOALERGIA (HOSPITAL LA PAZ)

*Provincia:* MADRID

*Correo electrónico del primer firmante:* sofiasp48gmail.com



## INTRODUCCION: :

En la consulta de alergia se atendió a una mujer de 45 años, diagnosticada de polinosis a gramíneas. que refería alergia a alimentos. Hace un año tomo fideos de Soba en un restaurante japonés, presentando de forma inmediata edema de labios y escozor que evolucionó a prurito. Este año en Rusia tomo pan (negro) y pan blanco, presentando de nuevo prurito faríngeo que evolucionó a Angioedema facial generalizada. .

## Objetivo:

Estudiar si el alforfón era el Antígeno responsable de ambas reacciones y su presencia en el pan y los fideos de Soba.

Asimismo demostrar la presencia de IgE específica para Alforfón en el suero del paciente.

## Material y métodos:

1º - Se preparó extracto de Alforfón, pan negro y Fideos de Soba, cocidos y crudos.

2º - Se cuantificó la proteína por el método Bradford (Bio- Rad ).

3º - Determinación de IgE específica para Alforfón por el método Cap de Phadia. Upsala Sweden.

4º - PAGE e inmuno transferencia con Mini- Pro team ( Bio- Rad ) e inhibición de S.D.S-PAGE inmunotransferencia con alforfón.

## RESULTADOS: :

La IgE fue (+) con un Cap a Alforfón de 21.2 Ku/l.

La fijación de IgE al inmunoblotting también fue (+) para Alforfón, confirmándolo con la inhibición de IgE frente al Pan Negro y los fideos de Soba, crudos y cocidos. confirmando la presencia de Alforfón en ambos alimentos .

## Conclusión :

Tanto los fideos de Soba como el Pan negro, contenían harina de Alforfón, que fue el responsable de las reacciones alérgicas. Esto demuestra la importancia del Laboratorio de Alergia para la detección de alérgenos ocultos en los alimentos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 215

## ANTICUERPOS ANTIFOSFOLÍPIDOS: COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS DE ELISA Y QUIMIOLUMINISCENCIA

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* JAVIER LÁZARO TORRES DÍAZ - CONCEPCIÓN BELTRAN TACORONTE - CESARINA GONZÁLEZ GONZÁLEZ - CORALIA GONZÁLEZ GONZÁLEZ - MARÍA JULIA HERNÁNDEZ CUBAS - FRANCISCA ALBACETE RODRÍGUEZ

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

*Provincia:* SANTA CRUZ DE TENERIFE

*Correo electrónico del primer firmante:* javier-lazaro@hotmail.com

## Introducción:

- El síndrome antifosfolipídico es un trastorno autoinmune que se caracteriza por la presencia de trombosis vascular, abortos de repetición y anticuerpos antifosfolípidos. En la práctica clínica, además del anticoagulante lúpico, en el laboratorio se determinan los anticuerpos anticardiolipina (aCL) IgG e IgM. En casos especiales también se mide la aCL IgA.

Muchos aCL están dirigidos frente a la B2GPI por lo que los inmunoensayos que detectan anti B2GPI (aGPI) se consideran de mayor especificidad que los primeros.

La detección de aCL y aGPI se realiza habitualmente por ELISA aunque en los últimos años han surgido nuevos métodos como el fluoroenzaimunoensayo o la quimioluminiscencia (QML) que ofrecen ventajas en el procesamiento de las muestras.

## Objetivo:

Determinar para aCL y aGPI la concordancia entre los métodos de ELISA y QML.

## Material y métodos:

- Paralelamente, a 104 muestras de suero que llegaron consecutivamente al laboratorio se les determinó aCL IgG y aCL IgM por ELISA así como aCL IgG, aCL IgM, aGPI IgG y aGPI IgM por QML.

- Se aplicó test estadístico (Kappa de Coen) para determinar la concordancia entre los métodos.

## RESULTADOS:

La concordancia entre el método de ELISA y el de QML fue buena (Kappa =0.634) para los anticuerpos aCL IgG y mala (Kappa = 0.346) para aCL IgM. La concordancia de ambos métodos para aCL IgG y aGPI IgG fue excelente (Kappa = 0.904) mientras que para la de aCL IgM con aGPI IgM obtuvo el valor máximo 1.00.

## CONCLUSIONES:

El método de QML presenta una concordancia muy buena entre aCL y aGPI tanto para IgG como para IgM. Comparando ELISA con QML, para aCL, la concordancia es regular para IgG y baja para IgM. Dado que no existe un método de referencia claro para la determinación de los anticuerpos antifosfolípidos, continuaremos el estudio mediante la aplicación de rangos de positividad bajo, medio y alto así como acudiendo a la revisión de las historias clínicas de los pacientes que muestren discrepancias entre los métodos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 218

## VALOR DIAGNÓSTICO DE LOS MARCADORES SEROLÓGICOS UTILIZADOS EN EL DESPISTAJE DE LA ENFERMEDAD CELIACA

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* Carmen Salcedo Moreno, Elena Marco Castro, Francisca Yanez Pereira, María Jesus Marcos Gutierrez, Montserrat Lozano Doncel, Rita Alvarez Doñorno

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario La Paz

*Provincia:* Madrid

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

## Introducción:

La enfermedad celíaca (EC) es una enteropatía inmune causada por una sensibilidad al gluten en individuos genéticamente susceptibles, que afecta al 1% de la población.

Los métodos de diagnóstico serológico constituyen una herramienta no invasiva de cribado de individuos de riesgo y población general. El conocimiento de la eficacia diagnóstica de los marcadores serológicos en el diagnóstico de la EC varía de forma considerable de unos estudios a otros debido a múltiples factores, como son la selección de pacientes, diferencias poblacionales y variabilidad metodológica. La disponibilidad de nuevos kits comerciales para determinar anticuerpos contra péptido específico de la gliadina, ha creado expectativas para mejorar la detección serológica de la EC.

## Objetivos:

Estudiamos la validez diagnóstica de los marcadores serológicos utilizados en la rutina diaria para despistaje de EC y de los nuevos anticuerpos anti péptido de Gliadina Deaminada isotipo IgG (GDG) e IgA (GDA).

## Pacientes y Métodos:

Se estudiaron 156 pacientes con un diagnóstico específico, 41 celíacos sin gluten, 44 celíacos con gluten y 71 no celíacos. En la muestra total hay 131 pacientes en edad pediátrica (74 son  $\leq$  de 3 años) y 25 pacientes adultos ( $\geq$ 16 años).

Se realizó la detección de Ac anti endomisio (EM) mediante Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) utilizando portas de esófago de mono (IMMCO).

Se determinaron los niveles de anticuerpos anti Transglutaminasa (anti TG), anti gliadina (AG) y anti péptido de gliadina deaminada (anti GD) de isotipo IgA e IGG mediante EliA en ImmunoCAP 250 (Phadia), punto de corte sugerido por la casa comercial  $\geq$ 10 UI/ml.

Los resultados se analizaron empleando el programa estadístico SPSS. La validez diagnóstica de los ensayos fue calculada por análisis de la curva ROC (Receiver operating characteristic).

## RESULTADOS:

Del análisis estadístico concluimos que para nuestra muestra, los marcadores que ofrecen diferencias significativas, entre los grupos estudiados: son los Ac anti endomisio, Ac anti TGA, Ac anti TGG y Ac anti GDG.

La especificidad y sensibilidad de los Ac anti EM fue del 97,2 y 95,5% respectivamente. El mejor punto de corte para los Ac anti TGA es de 15 UI/ml obteniéndose una sensibilidad y especificidad del 88,6% y 90,1% respectivamente.

Con respecto a los Ac anti TGG, para el punto de corte sugerido por la casa comercial (10UI/ml) obtenemos un 54.5% de sensibilidad y un 100% de especificidad, no siendo mejorado al cambiar dicho punto.

Para el marcador de los Ac anti GDG se ha obtenido un 93.2% de sensibilidad y una especificidad del 91.5%, ajustando el punto de corte a 7UI/ml.

Se analizaron los marcadores en los pacientes menores o iguales a 3 años y se encontró una especificidad y sensibilidad para los Ac anti TGA del 96% y 94% y para los Ac anti GDG del 96% y 91,6% respectivamente.

## CONCLUSIONES:

En función de los resultados obtenidos en este estudio se aconseja realizar el despistaje inicial de enfermedad celíaca con la prueba Ac anti TGA estableciendo el punto de corte para esa técnica de 15 UI/ml. En niños  $\leq$  3 años deberá ir acompañada de la determinación de Ac anti GDG aconsejándose un punto de corte de 7UI/ml.

Los Ac anti endomisio se utilizarían como técnica de apoyo en los casos dudosos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 219

## SELECCIÓN INMUNITARIA DE CÉLULAS TUMORALES DE MELANOMA Y VEJIGA CON MECANISMOS DE EVASIÓN MÁS AVANZADOS

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* Ana Isabel Rodríguez Fernández, Pablo Sáenz-Lopez Larrocha, Teresa Cabrera Castillo, Rafael Carretero Coca

*Centro de trabajo:* H.U VIRGEN DE LAS NIEVES

*Provincia:* Granada

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

## Introducción:

Existen numerosas inmunoterapias encaminadas a la activación del sistema inmunitario para que elimine el tumor. No obstante, la tasa de éxito de estos tratamientos es baja, existiendo un gran número de pacientes que no responden o que solo lo hacen parcialmente.

## Objetivo:

En este trabajo estudiamos la respuesta de melanomas y tumores vesicales tras el tratamiento inmunoterápico, centrándonos en el desarrollo de nuevos mecanismos de escape como respuesta a la activación del sistema inmunitario.

## Material y métodos:

Hemos analizado 16 metástasis de melanoma obtenidas de 2 pacientes con respuesta mixta y 26 tumores primarios y recidivas obtenidas de pacientes con tumor vesical. Se analizó el transcriptoma para analizar el efecto de la inmunoterapia mediante microchips de expresión. El patrón de expresión de HLA se analizó por técnicas inmunohistoquímicas y los niveles de mRNA por PCR a tiempo real.

## RESULTADOS:

Hemos encontrado que las metástasis que responden al tratamiento muestran una activación de los genes implicados en la presentación antigénica y en el rechazo agudo, demostrando que estas lesiones están siendo eliminadas por el sistema inmunitario mediante un proceso similar al que se da durante el rechazo de trasplantes. Al comparar la expresión de HLA en tumores que responden con los que progresan descubrimos que aquellas lesiones que progresan tienen más alteraciones en estas moléculas que las que responden. Además, las recidivas obtenidas después de la inmunoterapia muestran alteraciones adicionales que no estaban presentes en los tumores primarios. Este proceso no ocurre en tumores tratados sin inmunoterapia.

## CONCLUSIONES:

En este estudio demostramos que la inmunoterapia es capaz de eliminar tumores. Sin embargo, si los tumores tienen alteraciones irreversibles no responden a la terapia y siguen creciendo. Por lo tanto existe una selección de células tumorales con alteraciones más profundas en el sistema HLA.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 220

## ASOCIACION DE POLIMORFISMOS EN LOS GENES TLR CON EL RIESGO Y LAS CARACTERISTICAS DEL CANCER VESICAL

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* Ana Isabel Rodríguez Fernández, Macarena Guirado Rodríguez, Pablo Sáenz-Lopez Larrocha, Teresa Cabrera Castillo, Natalia Aptsiauri, Rafael Carretero Coca

*Centro de trabajo:* H.U VIRGEN DE LAS NIEVES

*Provincia:* Granada

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

## Introducción:

Durante los últimos años se ha demostrado la asociación del sistema inmunitario y la inflamación con un mayor riesgo de desarrollar distintos tipos de tumores. Sin embargo, los estudios se han centrado en la respuesta inmunitaria específica. La respuesta primaria, fundamental en la defensa durante los primeros estadios de la infección aún no han sido analizados en profundidad.

## Objetivos:

En este trabajo analizamos la relación existente entre diferentes polimorfismos en los genes TLR, fundamentales en el reconocimiento primario de patógenos y señales de estrés, con la aparición y las características de los tumores vesicales.

## Material y métodos:

Se han analizado los polimorfismos genéticos en los genes TLR 2, TLR 3, TLR 7, TLR 8, TLR 9, TLR 10 de 275 pacientes con cáncer urotelial de vejiga así como en 475 personas sanas. Los estudios estadísticos se realizaron con el programa estadístico SPSS.

## RESULTADOS:

En este estudio caso-control hemos encontrado asociación significativa entre los polimorfismos en TLR 7, TLR 8 y TLR 9 con un mayor riesgo de cáncer de vejiga. Los polimorfismos en TLR 7 también se ha asociado con estadios y grados de diferenciación más avanzados. TLR 9 también demostró estar asociado con la aparición de ganglios linfáticos afectados. Los polimorfismos en TLR 3, TLR 8 y TLR 9 mostraron asociación con la recidiva de los tumores tras la operación. En el caso de TLR 3, las recidivas que aparecieron habían progresado. Los análisis de supervivencia demostraron que determinados alelos de TLR 3, TLR 7 y TLR 10 se asociaban con una peor supervivencia.

## CONCLUSIONES:

En este estudio demostramos que existe una relación entre los distintos alelos de los genes TLR con el cáncer vesical. Las proteínas TLR son los receptores más importantes de la respuesta inmunitaria primaria. Son fundamentales en el reconocimiento de patógenos y en las señales de estrés celular. Una correcta respuesta a estos patógenos inductores de cáncer y de las señales de estrés es fundamental para prevenir el cáncer urotelial.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 229

## DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE GAMMAPATÍAS MONOCLONALES POR NEFELOMETRÍA E INMUNOFIJACIÓN.

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* Delgado Martín, Ángeles; Caballero Polo, M. Carmen; Ortega de Francisco, Ana; Lucas Gómez, Margarita; Sevilla Sanchez, Margarita; Menchen Sanchez-Rey, Miguela; Rey Prieto, M<sup>a</sup> del Juncal

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Doce de Octubre (Av de Córdoba s/n), Madrid.

*Correo electrónico del primer firmante:* mayanque@yahoo.com

## Introducción:

Las gammopatías monoclonales representan un grupo de enfermedades caracterizadas por la expansión de un clon de linfocitos B productor de un determinado tipo de inmunoglobulina (paraproteína). Estas gammopatías aparecen asociadas a patologías como mieloma múltiple, macroglobulinemia de Waldenström, amiloidosis y gammopatía monoclonal de significado incierto (GMSI). La producción anormal de un tipo determinado de inmunoglobulina puede detectarse en suero mediante inmunoelectroforesis, en forma de banda o componente monoclonal.

## Objetivo:

Análisis y descripción de los resultados obtenidos en la determinación de paraproteínas monoclonales en el Servicio de Inmunología del Hospital 12 de Octubre durante el año 2010.

## Material y métodos:

Se estudiaron 1069 muestras de sangre en pacientes procedentes de diferentes servicios y consultas del Hospital 12 de Octubre: M. Interna, Nefrología, Dermatología, Reumatología, Neurología, Alergia y Pediatría entre otros, durante el año 2010.

El estudio se realizó mediante:

- 1.- Cuantificación de cadenas pesadas y cadenas ligeras de inmunoglobulinas mediante nefelometría (IMMAGE 800; IZASA).
- 2.- Inmunofijación (HYDRASYS FOCUSING; SEBIA) y posterior visualización mediante tinción de azul de violeta.

## RESULTADOS:

De las 1069 muestras de sangre estudiadas un 8,5% (91) presentaron Paraproteínas Monoclonales. El porcentaje relativo obtenido según el tipo de cadenas pesadas resultó ser:

- 1.- Paraproteína IgG-Kappa o IgG-Lambda: 70,3% (64).
- 2.- Paraproteína IGM-Kappa o IGM-Lambda: 19,8% (18).
- 3.- Paraproteína IgA-Kappa o IgA-Lambda: 9,9% (9).

## CONCLUSIONES:

La determinación de una paraproteína en suero es un buen parámetro para el diagnóstico y seguimiento de las diferentes gammopatías monoclonales, sin embargo menos del 10% de los pacientes remitidos presentan realmente dicha patología.

En lo referente al tipo de paraproteína presentada, las de tipo IgG (ya sea kappa o lambda) resultan predominantes, aunque quedaría por determinar si esto guarda algún tipo de relación con el tipo de gammopatía presentada.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 238

## UTILIDAD DE LOS LINFOCITOS INTRAEPITELIALES EN EL DIAGNOSTICO DE ENFERMEDAD CELIACA.

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* Díaz-Madroñero Fernandez-Arroyo Josefa ; Menchen Sanchez-Rey, Miguela; Cano del Moral, Elena; Sevilla Sanchez, Margarita; Caballero Polo, Carmen; Delgado Martín, Ángeles; Rey Prieto, M<sup>a</sup> del Juncal.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Doce De Octubre (Avenida de Córdoba s/n)

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* mariajosediaz05@hotmail.com

## Introducción:

La enfermedad celiaca (EC) es una enteropatía crónica provocada por una intolerancia al gluten de la dieta. El gluten es un componente proteico de los cereales en la dieta occidental, cuya ingesta desencadena una activación de los linfocitos T CD4 de la lámina propia intestinal. Esta fuerte y constante estimulación inmunológica conduce a una enteropatía, con atrofia vellositaria e hiperplasia de criptas. Los elementos inmunológicos implicados son: el antígeno de histocompatibilidad HLA DQ2. Títulos altos de anticuerpo anti gliadina, antiendomiso y anti transglutaminasa. En la actualidad existen subgrupos diagnósticos de la EC.

1º EC sintomática o clásica

2º EC silente, aumento de niveles de anticuerpos, pero sin síntomas.

3º EC latente, con presencia no constante de anticuerpos y enteropatía demostrable anatomopatológicamente.

4º EC potencial, con alteraciones inmunológicas similares a la EC.

## Objetivos:

El antígeno de histocompatibilidad HLA DQ2, es un marcador de susceptibilidad genética a sufrir la EC, pero su utilidad es reducida en el diagnóstico, ya que es un antígeno ampliamente representado en poblaciones caucásicas meridionales (30%).

Los anticuerpos anti gliadina y anti endomisio de especificidad y sensibilidad cercana al 100%.

En la EC, existe un tercer dato inmunológico de gran importancia: Es la enfermedad en la que mejor documentada está la existencia de linfocitos intraepiteliales intestinales (LIE).

## Material y métodos:

Para la determinación de LIE, se analizan muestras de duodeno remitidas de la unidad de endoscopias, procedentes de pacientes con sospecha de EC, con niveles de anticuerpos anti gliadina y antitransglutaminasa elevados. Las muestras se desepitelizan en un medio compuesto por RPMI, FCS al 10%, Glutamina 2mM, Antibiótico, EDTA 1mM y DTT 1mM, a temperatura ambiente una hora en agitación. Una vez terminada esta fase se procede al marcaje con anticuerpos monoclonales CD3, CD45, TcR $\beta$ , y CD103, y al posterior análisis por citometría de flujo.

## RESULTADOS:

Las alteraciones de LIE en los pacientes con EC se concretan en un aumento porcentual de LIE, aumento porcentual de LIE con el receptor TcR $\beta$  y disminución porcentual de LIE con fenotipo Natural Killer. Los valores normales son: LIE: 3,2-12,7%, TCR $\beta$ : 1,4-15%, NK-Killer: 11-59%.

## CONCLUSIONES:

Actualmente la determinación LIE es de gran ayuda para el diagnóstico de la EC, ya que ayuda a complementar los datos anatomopatológicos de las biopsias intestinales. Reviste sobre todo gran importancia en las presentaciones atípicas de la enfermedad y más concretamente, en los casos de EC latente-potencial, ya que la aparición de anticuerpos y la lesión anatomopatológica no son constantes

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 245

## EVALUACION DE LOS ASCA EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* MERCEDES GIL REYES, MERCEDES MENDOZA QUINTANA, CARMEN BARTOLOME DURAN, ELISA MONTESDEOCA QUINTANA, JOSE L. BERNAL GALAN, YURENA NARANJO SANTANA.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO DE GRAN CANARIA DR. NEGRIN

*Provincia:* LAS PALMAS

*Correo electrónico del primer firmante:* mmgr43@msn.com

## Introducción:

Los anticuerpos anti-Saccharomyces cerevisiae (ASCA) están dirigidos frente a una glicoproteína de 200 kDa. Estos anticuerpos son marcadores de enfermedad inflamatoria intestinal (EII), y se encuentran más frecuentemente en pacientes con enfermedad de Crohn (ECr) que en la colitis ulcerosa (CU) y que en otras enfermedades autoinmunes (EAI) diversas. El estudio previo de estos marcadores serológicos adquiere en la actualidad una relevancia considerable para la evaluación de estos pacientes ya que nos proporciona una nueva herramienta complementaria a otras técnicas más agresivas y necesarias para su diagnóstico definitivo.

## Objetivo:

El objetivo de este estudio ha sido evaluar en nuestro medio el comportamiento de estos marcadores de EII, junto con los anticuerpos anti-nucleares (ANA) y los anti-citoplasma de neutrófilo (ANCA), en muestras de suero de pacientes con ECr y CU con respecto a otras EAI.

**Material y Método.** - Para ello, se han evaluado 210 muestras de suero de 102 varones y 108 mujeres entre los 2 y 84 años de edad. Se han analizado los resultados de 92 pacientes con ECr, 42 pacientes con CU y de 55 pacientes con otras EAI. Se ha realizado la determinación de los ASCA de tipo IgG e IgA mediante un ELISA monotest en el analizador Alegria®-Orgentec-Palex Medical SA, los ANA sobre células Hep-2 y los ANCA sobre neutrófilos fijados en etanol por IFI de Zenit-Menarini Diagnostics.

## RESULTADOS:

Se han detectado ANA positivos en el 37% de los pacientes con otras enfermedades diversas sin EII, en el 63% de pacientes con CU y en el 64% de pacientes con ECr, y ANCA positivos en el 10% de pacientes sin EII, en el 56% de las CU y en el 14% de ECr. En el grupo sin EII encontramos un (3/55) 5.5% de pacientes con ASCA-G y ningún paciente (0/55) de nuestro grupo presentaba positividad frente a los ASCA-A. En el grupo de CU, un 2.4% (1/42) de ellos presentaban ASCA-A positivos y el 12% (5/42) eran positivos para ASCA-G, mientras que en el grupo de ECr, un 35% (32/92) tenían ASCA-A positivos y un 51% (47/92) positividad de los ASCA-G.

## CONCLUSIONES:

- A la vista de estos resultados, en nuestro medio podemos constatar la alta prevalencia de los ASCA positivos en los pacientes con ECr, en especial de los ASCA-IgG, y el predominio de ANCA positivos en los pacientes con CU, por lo que estos marcadores pueden ser de gran utilidad en el diagnóstico diferencial entre ECr, CU y otras EAI.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 254

## DIFERENTES TRATAMIENTOS DE INMUNOTERAPIA RESTAURAN LA INMUNOSUPRESIÓN PRODUCIDA POR UN TUMOR MHC-I POSITIVO DURANTE EL PROCESO DE METASTATIZACIÓN

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* Isabel Linares Dickler, Irene Romero García, Ana Belén Rodríguez Martín, Ángel Miguel García Lora y Cristina Garrido López

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Virgen de las Nieves

*Provincia:* Granada

*Correo electrónico del primer firmante:* isa80ld@hotmail.com

## Introducción:

Los tratamientos anti-cancerígenos de inmunoterapia han mostrado un alto grado de fracaso debido a la pérdida de expresión de moléculas MHC de clase I y evasión de las células tumorales de la respuesta inmunológica desarrollada.

## Objetivos:

Inhibir el desarrollo metastásico de la línea de fibrosarcoma MHC-I positiva GR9-A7 en ratones BALB/c. En previos ensayos de metástasis espontáneas GR9-A7 metastatizó en 18 de 20 ratones, produciendo 6-58 metástasis pulmonares y 0-4 metástasis linfáticas. Un 71% de estas metástasis presentaban una disminución en la expresión MHC-I, recuperable con IFN- $\gamma$ . El estudio de las poblaciones linfocitarias mostró una inmunosupresión caracterizada por la disminución de linfocitos T, B y NK, así como una fuerte disminución de T reguladores.

## Material y métodos:

Se realizaron ensayos de metástasis espontáneas con el clon GR9-A7 en ratones BALB/c. Estableciendo grupos de 20 ratones a los que se administraron diferentes tratamientos: 1) Control: suero salino; 2) 20µg/ratón de CpG ODN 1826 y un millón de células de GR9-A7 irradiadas a una intensidad de 100Gy; 3) 2,5 mg/ratón de Protein-bound polysaccharide K (PSK); 4) Docetaxel (125µg/ratón); 5) PSK y docetaxel. Se inyectaron subcutáneamente 1,25 x 10<sup>6</sup> células de GR9-A7, en la pata de ratones BALB/c (día 0). El tumor local fue extirpado a los 20-25 días, comenzando con la administración de los tratamientos por vía intraperitoneal y régimen semanal durante 6 semanas. El día 70, una vez terminados los tratamientos 10 ratones de cada grupo fueron sacrificados, a excepción de los grupos control y docetaxel, donde se tuvieron que sacrificar todos los ratones debido a que presentaban signos de enfermedad. Los 10 ratones restantes fueron sacrificados el día 120. A todos los animales se les realizó la necropsia, extirpando las metástasis encontradas para analizar la expresión MHC-I. Se extirparon los bazo aislando los leucocitos para el estudio de las subpoblaciones linfocitarias.

## RESULTADOS:

Los ratones de los grupos de CpG, PSK, y combinación de PSK y docetaxel estaban libres de metástasis. En el grupo control se encontró una metastatización similar a los ensayos anteriores con GR9-A7. El tratamiento con docetaxel, aunque redujo no eliminó el crecimiento metastásico. Las metástasis encontradas son positivas en la expresión MHC-I, pero presentan una disminución respecto al clon original, reversible con IFN- $\gamma$ . En el estudio de las poblaciones linfocitarias se encontró como CpG produjo un estímulo de los linfocitos T CD4+ y CD8+. PSK indujo la respuesta por NK, mientras que en combinación con docetaxel redujo fuertemente la población de T reguladoras.

## CONCLUSIONES:

Los resultados indican que el mecanismo de evasión de GR9-A7, altamente positivo en la expresión superficial de moléculas MHC-I, se basa en una disminución reversible en la expresión de MHC-I y una fuerte inhibición del sistema inmunológico. Los tratamientos de inmunoterapia restauran el estado inmune del huésped erradicando completamente las metástasis originadas por GR9-A7, susceptibles de ser reconocidas por las células inmunológicas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 257

## POBLACIONES LINFOCITARIAS Y NIVELES DE CITOQUINAS EN PACIENTES CON SEPSIS GRAVE EN EL HOSPITAL DE JEREZ.

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* Carmen Pinto Vega. Caridad Coello Becerra. Juan F Rodríguez Gutiérrez. Dolores Romero Valdés. Francisco Valenzuela Sánchez.

*Centro de trabajo:* Hospital de Jerez

*Provincia:* Cádiz

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

## RESUMEN:

POBLACIONES LINFOCITARIAS Y NIVELES DE CITOQUINAS EN PACIENTES CON SEPSIS GRAVE EN EL HOSPITAL DE JEREZ.

Pinto-Vega, C1; Coello-Becerra, C1; Rodríguez-Gutiérrez, JF1; Romero-Valdés, D1; Valenzuela, F2. Servicios de Hematología (1) y UCI (2). Hospital Jerez de la Frontera.

## Objetivo:

Estudiar los cambios de las poblaciones linfocitarias y niveles de citocinas durante la evolución de los pacientes sépticos ingresados en UCI y su relación con la mortalidad.

## Método:

Estudio prospectivo observacional longitudinal. Se incluyeron los pacientes ingresados de forma consecutiva en la UCI del Hospital de Jerez, con el diagnóstico de sepsis grave. Se excluyeron los pacientes menores de 18 años y mayores de 70 años, en tratamiento con corticoides, u otra droga que afecte el eje HHA, insuficiencia suprarrenal previa, pacientes con enfermedad hematológica, neoplásica o auto-inmune. Se han determinado las subpoblaciones linfocitarias y los niveles de citocinas TNF $\pm$ , IL2, IL4, IL6 e IL10 al ingreso, a las 48 horas, al 5º día y antes del alta.

## RESULTADOS:

Tras la aplicación del protocolo se reclutaron 50 pacientes, con edad media de 53 $\pm$ 13 años. Mortalidad del 18%. El recuento medio de linfocitos es de 944,6 $\pm$ 624, en el momento del ingreso, sin diferencia entre los subgrupos de supervivencia; 14 pacientes tuvieron al ingreso menos de 500 linfocitos, en los que la mortalidad fue del 28%, superior a la de los 36 pacientes restantes que fue del 13,9%. Los CD4 representan el 36,85%, con un número de células de 373 $\pm$ 324. El cociente CD4/CD8 no mostró cambios significativos. El porcentaje de CD4 aumenta significativamente a las 48 horas del ingreso (36,85 $\pm$ 12%/45 $\pm$ 12,5%; p=0,0001). Los CD19 aumentan significativamente a las 48 horas y las NK al ingreso representan el 8,86 $\pm$ 7,9 % de los linfocitos y descienden de forma significativa a las 48 horas. La comparación de los grupos de supervivencia mostró diferencia significativa en el porcentaje de CD4 en los supervivientes al ingreso (39 $\pm$ 11% / 27 $\pm$ 12%; p<0,01). Los valores de TNF fueron altos durante toda la evolución de los enfermos desde 543 $\pm$ 357 pg/ml al ingreso hasta los 352 $\pm$ 292 pg/ml al alta. La IL2 y la IL4 están altas de forma constante, sin diferencias significativas durante la evolución. Los valores de la IL6 al ingreso son de 453 $\pm$ 445 pg/ml y descienden de forma significativa a las 48 horas. Estudiados los grupos de mortalidad a las 48 horas de ingreso, existe una diferencia significativa de niveles de IL6 (179 $\pm$ 263/420 $\pm$ 426; p=0,048). Los valores de IL10 fueron elevadas al ingreso, con cifras medias de 336 $\pm$ 334 pg/ml, disminuyendo de forma progresiva hasta 130 $\pm$ 196 pg/ml al alta (p=0,001). Estudiados la evolución de los valores de IL10 en los grupos de supervivencia se observa persistencia de los niveles altos de IL10 en el grupo de no supervivientes con diferencia significativa respecto a los supervivientes tanto al ingreso (583 $\pm$ 351 pg/ml contra los 282 $\pm$ 308 pg/ml (p=0,0129) como a las 48 horas (463 $\pm$ 404 pg/ml /155 $\pm$ 189 pg/ml; p=0,0021).

## CONCLUSIONES:

Una linfopenia a expensas de linfocitos CD4+, se asocia a mal pronóstico. La persistencia del proceso inflamatorio caracterizado por niveles altos de citocinas pro y antiinflamatorias es un signo de mal pronóstico, sobre todo cuando predomina la IL-10.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 261

## COMPARACION DE resultados ENTRE EL ANALIZADOR DE ELECTROFORESIS CAPILAR PARAGON CZE 2000 Y EL V8 (HELENA, BIOSCIENCE)

Trabajo de: Inmunología.

Autor/a/s: M<sup>a</sup> ANGELES ESTEBAN PEPIÓ, MÓNICA GARCÍA FERNÁNDEZ, M<sup>a</sup> ESTHER GARCÍA GUANTES, SONIA SISÓ ROS, JUAN JOSÉ DÍAZ BERNAL

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARI VALL D'HEBRON

Provincia: BARCELONA

Correo electrónico del primer firmante: angelsesteban@gmail.com

## Introducción:

La Electroforesis Capilar de Zona separa las proteínas séricas humanas en cinco fracciones distintas y bien resueltas: Albúmina, Alfa-1, Alfa-2, Beta y Gamma. Se utiliza para la detección de Gammopatías Monoclonales y para facilitar el diagnóstico de estados fisiopatológicos asociados a cambios en varias cantidades de proteína.

## Objetivo:

C Comparación de los proteinogramas generados por el analizador de Electroforesis Capilar V8 (Helena, Bioscience) y el de referencia Paragon CZE 2000 para valorar la intercambiabilidad en el estudio de Componentes Homogéneos en Gammopatías Monoclonales.

## Material y métodos:

Se procesaron 378 muestras de suero, entre normales y patológicas por el analizador en prueba V8 y por el analizador de referencia Paragon CZE durante 9 días, con una media de 42 muestras por día.

La detección y cuantificación de componentes monoclonales por ambos métodos se valoró de la siguiente manera:

Primero se pasaron todas las muestras por el analizador de referencia (CZE) y se hizo el trabajo rutinario de repasar todos los proteinogramas generando cinco tipos de

## RESULTADOS:

Normal, Componente Homogéneo en Beta y su cuantificación, Componente Homogéneo en Gamma y su cuantificación, Ver Informe en Gamma o Ver Informe en Beta cuando la imagen sugería un posible componente monoclonal y debía estudiarse por Inmunofijación para confirmar el resultado.

Después se llevó a cabo el mismo procedimiento con el otro analizador (V8) sin tener referencia de los resultados anteriores.

## RESULTADOS:

De las 378 muestras:365 muestras(96,6%) tuvieron los mismos resultados por ambos aparatos: 310 fueron normales respecto a la fracción Beta y Gamma, 13 presentaban un Componente Monoclonal en Beta, 28 en Gamma, 5 generaron un estudio de Inmunofijación por un patrón anormal en Beta y 9 por una migración anormal en Gamma.

13 muestras (3,4%) obtuvieron resultados discordantes:

- 1) Cinco muestras generaron un estudio de Inmunofijación en Beta sólo con V8. La Inmunofijación fue negativa.
- 2) Dos generaron un estudio de Inmunofijación en Gamma sólo con CZE. La Inmunofijación fue negativa.
- 3) Una generó un estudio de Inmunofijación en Gamma con V8 y en Beta con CZE. La Inmunofijación fue negativa.
- 4) Una generó un estudio de Inmunofijación en Beta con V8 y en Gamma con CZE. La Inmunofijación fue negativa.
- 5) Una muestra normal en CZE presentaba un patrón de Electroforesis compatible con un Componente Homogéneo en Beta en V8. Patrón oligoclonal, repetir en unos meses.
- 6) Una muestra que presentaba un Componente Homogéneo en Gamma con CZE, generó sólo un estudio de Inmunofijación con V8. Fué un Componente Homogéneo en Gamma IgG».
- 7) Una muestra mostró un Componente Homogéneo en Gamma con V8 mientras que con CZE generó un estudio de Inmunofijación en Beta. Fue un Componente Homogéneo en Gamma IgM°.
- 8) Una muestra que en CZE presentó un Componente Homogéneo en Gamma, mientras que en el V8 se informó como no separación beta gamma . Fue un Componente Homogéneo en Gamma IgG».

## CONCLUSIONES:

Las discordancias halladas en los falsos positivos, sobre todo en la fracción Beta, pueden ser debidas a la falta de experiencia en el análisis con el nuevo analizador (V8).

Creemos indicado repetir esta comparación al cabo de unos meses, con una mayor experiencia para su confirmación.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 314

## PREVALENCIA DE CRIOGLOBULINAS EL EL AREA DE TALAVERA DE LA REINA

Trabajo de: Inmunología.

Autor/a/s: MARIA DEL PRADO PATIÑO NARANJO , MARIA CARMEN ALVAREZ DORADO

Centro de trabajo: HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DEL PRADO DE TALAVERA DE LA REINA

Dirección del primer firmante:

Provincia: TOLEDO

Correo electrónico del primer firmante: pradirene@ya.com

## Introducción:

El término crioglobulinemia define la presencia en sangre de proteínas, generalmente inmunoglobulinas, que precipitan reversiblemente a temperaturas inferiores a 37°C. y que se redisuelven por calentamiento.

Se distinguen tres tipos:

Tipo I (crioglobulinemia monoclonal) asociadas a enfermedades linfoproliferativas.

Tipo II (crioglobulinemia mixta monoclonal) asociadas a enfermedades autoinmunitarias, linfoproliferativas o infecciosas

Tipo III (crioglobulinemia mixta policlonal) asociadas a enfermedades infecciosas producidas por virus hepatotropos.

## Objetivo:

Realizar un estudio sobre las peticiones de crioglobulinas realizadas en el área sanitaria del Hospital N.S.del Prado y analizar los resultados obtenidos en dichas determinaciones

## Material y métodos:

Se realizó un estudio retrospectivo de las determinaciones realizadas de crioglobulinas durante los años 2009, 2010, y los meses de enero, febrero de 2011. Tras el tratamiento del crioprecipitado la identificación de las inmunoglobulinas positivas se realizó el Hydrasys Focusing de Sebia y la cuantificación de las inmunoglobulinas en el BNA de Siemens.

## RESULTADOS:

En los años 2009, 2010 y enero, febrero 2011 se realizaron 110 determinaciones de crioglobulinas. De las muestras analizadas el mayor porcentaje un 89% (80) dieron negativas para crioglobulinas. Del resto un 4% (3) fueron dudosas, y 21% (19) fueron claramente positivas, tratándose en la mayoría de los casos de crioglobulinemia mixta de tipo II.la prevalencia ligada a sexo no es significativa ya que de los casos positivos 8%(9) fueron hombres mientras que el 10% (11) fueron mujeres.

## CONCLUSIONES:

Los resultados obtenidos nos indican la escasa prevalencia de crioglobulinemia en el área sanitaria de TALAVERA donde predomina la de tipo mixto de tipo II

## EVALUACIÓN DEL BIOPLEX 2200 COMO MÉTODO DE CRIBAJE DE ANA: COMPARACIÓN CON OTROS MÉTODOS.

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* Sevilla Sánchez, Margarita; Suárez Olivar, M. Pilar; Valero Pavón Antonia; Cano Del Moral, Elena; Díaz-Madroño Fernández- Arroyo, Josefa; Caballero Polo, M. Carmen; Bajo la supervisión de Marta Talise

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO 12 DE OCTUBRE

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* marga-sevilla@hotmail.com

### Introducción:

Los anticuerpos antinucleares (ANA) son autoanticuerpos que reconocen constituyentes nucleares de las células, como la membrana nuclear, el nucleoplasma, y el nucleolo. La detección de ANAs es muy útil en el diagnóstico y seguimiento de enfermedades autoinmunes sistémicas, como el lupus eritematoso sistémico, el síndrome de Sjögren, la esclerodermia la enfermedad mixta del tejido conectivo, la polimiositis y la dermatomiositis. Los métodos tradicionales para detectar ANAs son la inmunofluorescencia indirecta (IFI) en células HEP-2 y el enzoinmunoanálisis (EIA). Un resultado positivo en el screening de ANA conduce a la realización de posteriores análisis para demostrar la presencia de marcadores útiles para el diagnóstico de enfermedades autoinmunes, como los anticuerpos frente al ADN de doble cadena (dsDNA) o los anticuerpos frente a antígenos extraíbles del núcleo (ENA). Estas técnicas son largas y laboriosas, y se caracterizan por frecuentes discrepancias entre laboratorios.

### Objetivos:

La finalidad de este trabajo es evaluar la sensibilidad del BioPlex 2200 de Bio-Rad como método de cribaje para la detección de ANAs

### Material y métodos:

Seleccionamos aleatoriamente 500 muestras de suero recibidos en la sección de Autoinmunidad para la evaluación del screening de ANA mediante el BioPlex™ 2200 (Bio-Rad), un sistema totalmente automático basado en la tecnología Luminex, que determina 13 anticuerpos simultáneamente en el tubo primario: SS-A (52 y 60 kDA), SS-B, Sm, Sm/RNP, RNP-A, RNP-68, Scl70, CenpB, dsDNA, cromatina, Jo1 y ribosomal-P. Se determinó la presencia de ANAs mediante IFI en células HEP-2 de Bio-Rad (positivo desde título 1/80), ELISA SeraQuest-ANA de Grifols, Luminex-Athena de Grifols y BioPlex™ 2200 de Bio-Rad.

### RESULTADOS:

Obteniendo una concordancia global del 88,78% de BioPlex frente a IFI, 76,70% de BioPlex frente a ELISA y 86,57% de BioPlex frente a Luminex-Athena. Las discrepancias observadas pueden deberse a la diferente naturaleza y diseño de los antígenos usados en cada método, tal vez mediante pequeñas modificaciones en el punto de corte se conseguiría una mejor concordancia.

### CONCLUSIONES:

Como consecuencia de lo expuesto anteriormente concluimos que el método BioPlex™ 2200, que utiliza la tecnología Luminex, tiene un mejor porcentaje de concordancia con el método de referencia y representa una solución rápida, sensible y específica al utilizar tubo primario y ampliar el número de antígenos extraíbles del núcleo (ENA) detectados que tienen valor diagnóstico para las enfermedades autoinmunes.

## EFFECTO SOBRE EL FACTOR REUMATOIDE Y LOS ANTICUERPOS ANTI-PEPTIDOS CITRULINADOS DEL TRATAMIENTO CON INFILIXIMAB EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* María Susana Ramiro Latienda, María Del Rosario Moral Hernando, Florencia Arribas Arribas, Juan Manuel Torres Canizales y Dora Pascual-Salcedo

*Centro de trabajo:* Hospital "La Paz", Madrid

*Provincia:*

*Correo electrónico del primer firmante:* slatienda yahoo.es

### Introducción:

Los últimos tratamientos que se están empleando para tratar a los pacientes con Artritis Reumatoide (AR) son los anticuerpos monoclonales anti-TNF $\alpha$ , de los cuales el más conocido es el Infliximab (IFX). En tratamientos de larga duración, el anti-TNF $\alpha$  puede producir efectos sobre otros autoanticuerpos presentes en el suero de los pacientes con AR.

### Objetivo:

Estudiar el efecto que tiene el IFX sobre los niveles de Factor reumatoide (FR) y los anticuerpos anti péptidos citrulinados (anti-CCP) en pacientes con AR en tratamiento de larga duración.

### Materiales y métodos:

Se han estudiado 85 pacientes con AR (81% mujeres), tratados con IFX (tiempo medio 4,42 años) a lo largo de más de 8 años. La dosis media de Metotrexato (MTX) fue de 15 $\pm$ 4.96 mg a la semana. El FR se cuantificó por nefelometría (Dade-Behring, pos >20 UI/ml), y el anti-CCP por ELISA de segunda generación (Mark-2, Eurodiagnóstica; positivo >25 UI/ml). Los niveles séricos de 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 antiinfliximab (HACA) se midieron por bridging ELISA (1). Niveles de HACA superiores a 50 (Unidades Arbitrarias/ml) AU/ml se consideraron positivos (media+10 SD de 100 controles sanos). La valoración de la actividad de la enfermedad se realizó por el índice DAS (Disease Activity Score) para 28 articulaciones.

### RESULTADOS:

De los 85 pacientes, 70 (82%) fueron anti-CCP positivos y 64 (75%) FR positivo. Del total de pacientes 27 (31%) desarrollaron anticuerpos anti-IFX durante el tratamiento (tiempo medio de aparición: 16 semanas). Los pacientes que suspendieron el tratamiento en algún momento del tratamiento, debido a ineficacia, fueron 45. A 69 (81%) pacientes se les administró MTX simultáneamente a IFX. Todos los pacientes tenían enfermedad activa en el momento de la inclusión (DAS basal: 5.43  $\pm$  1.3). Se seleccionaron 7 momentos de estudio: basal, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, >8 años. El FR disminuyó en más del 50% del valor inicial a partir de los 2 años de tratamiento, hasta hacerse negativo en 22 pacientes. El anti-CCP tuvo pequeñas oscilaciones pero no disminuyó a lo largo del tratamiento. La disminución del FR no se correlacionó con la aparición de anticuerpos anti-IFX, con la administración de MTX, ni con la respuesta clínica medida por los criterios EULAR.

### Conclusión:

Los niveles de los autoanticuerpos presentes en la AR pueden evolucionar a lo largo del tratamiento con fármacos biológicos. Se observó una reducción marcada en los títulos de FR pero no en los del anti-CCP en el tratamiento de larga duración con IFX. Esto sugiere que la producción de estos anticuerpos puede seguir diferentes caminos regulatorios.

D. Pascual-Salcedo. Influence of immunogenicity on the efficacy of long-term treatment with Infliximab in Rheumatoid Arthritis. Rheumatology, 2011 (en prensa)

## ANTICUERPOS ANTI-IGA DE ISOTIPO IGG: VALORACIÓN DE UNO DE LOS KITS CUANTITATIVOS EXISTENTES

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* María del Carmen Pascual Campo, Begoña Varga Cubillo, María del Carmen Fernández-Carrión Pérez, Carmen Bernal de la Rosa, Antonio Ferreira Cerdán.

*Centro de trabajo:* Hospital La Paz-Unidad de Inmunología-Madrid

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* mc\_pascualc@hotmail.com

### Introducción:

Los anticuerpos anti-IgA de clase IgG pueden inducir reacciones anafilactoides y están presentes en alrededor de un 10% de pacientes con Deficiencia de IgA y en pacientes con Síndrome variable común de Inmunodeficiencia. La incidencia de la Deficiencia de IgA es alta entre la población, con una frecuencia que varía entre 1/400-1/700. La formación de inmunocomplejos de anticuerpos (IgG anti IgA) con antígeno (IgA) da lugar a activación del Sistema del Complemento. Las reacciones anafilactoides que liberan anafilotoxinas vasoactivas (C3a, C4a, C5a) son una complicación importante en las transfusiones sanguíneas o en la terapia sustitutiva con gammaglobulinas

La determinación de anticuerpos anti-IgA ha quedado restringida a muy pocos centros en el mundo, debido a la ausencia de Kits comerciales cuantitativos, realizándose la técnica mediante ELISA manuales costosos y laboriosos, con resultados no comparables entre laboratorios debido a que cada laboratorio utiliza reactivos diferentes.

Recientemente se ha comercializado algún test de cribado de anticuerpos anti-IgA, que es utilizado en los bancos de sangre de forma sistemática y aunque el resultado es cualitativo, resulta interesante como primer test estandarizado.

Nosotros llevamos realizando la determinación de anticuerpos anti-IgA de clases IgG, IgM e IgE frente a IgA1 e IgA2 y frente a los alotipos de IgA2 desde mediados de los años 80, nuestra experiencia demuestra que los anticuerpos de clase IgM no parecen ser relevantes, y los escasos pacientes con anticuerpos de clase IgE (reponsables de reacciones anafilácticas) presentan conjuntamente anticuerpos de clase IgG. Recientemente se ha comercializado un kit de anticuerpos anti-IgA de isotipo IgG.

El objetivo del presente trabajo es valorar si este producto es útil y comparable a nuestro ensayo manual lo que permitiría que la determinación de anticuerpos anti-IgA estuviera al alcance de bancos de sangre, laboratorios de Inmunología y todos aquellos que tratan pacientes susceptibles de terapia con gammaglobulina.

### Materiales y métodos:

Se ha realizado el estudio mediante nuestra técnica de ELISA (Clin Immunol Immunopathol 1988;47: 199-207) y mediante el kit Human Anti-IgA isotype IgG ELISA, referencia RD199145100R, lote RD-2253 de BioVendor (www.biovendor.com).

Se evaluaron 29 sueros negativos para anticuerpos anti-IgA de clase IgG y 32 sueros

positivos para anticuerpos IgG anti-IgA con diferentes títulos entre un rango de positividad de 1/160 a 1/40000 según nuestro ELISA.

Se evaluaron los controles positivos y negativos del kit comercial, así como su curva en nuestro ensayo.

Se realizaron en ambos métodos inhibiciones específicas con IgA para comprobar que los resultados positivos no se debían a falsas positividad, estas inhibiciones se realizaron tanto con nuestra IgA como con la suministrada en el kit comercial.

#### RESULTADOS:

Todos los sueros negativos por nuestro ensayo fueron negativos por el kit comercial.

Todos los sueros positivos por nuestro ensayo fueron positivos también por el kit comercial, si bien la correlación entre nuestro título y su cuantificación no se correspondían en muchos casos.

Todas las inhibiciones realizadas tanto en nuestro ensayo como en el kit comercial realizadas con su IgA y con la nuestra demostraron la especificidad de ambos métodos y por tanto la no presencia de falsos positivos en las muestras ensayadas así como en la curva del kit y su control positivo

#### CONCLUSIONES:

Se ha evaluado uno de los escasos kits comerciales en el mercado para la cuantificación de anticuerpos anti-IgA de clase IgG, los resultados demuestran que, aunque no diferencia si las positividad van dirigidas contra la IgA1 o la IgA2 es útil para la cuantificación de anticuerpos anti IgA de clase IgG globalmente.

La existencia de Kits comerciales fiables permite poner a disposición de Bancos de sangre y laboratorios de Inmunología y Hematología una herramienta necesaria para el seguimiento, tanto de pacientes tratados con gammaglobulina o Deficientes en IgA susceptibles de trasfusiones sanguíneas como de todos aquellos que hayan tenido reacciones anafilactoides tras administración de hemoderivados.

Además, el tiempo de realización de la determinación es de aproximadamente de 3 horas, mucho menor que los ensayos manuales y el precio de la misma al ser cuantitativa, de aproximadamente de 15€, menor también al coste del ensayo manual

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 353

### PROTOCOLO PARA LA GESTIÓN DE LAS PETICIONES DE INMUNOFIJACIÓN EN EL LABORATORIO DE INMUNOLOGÍA

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* Julián Viñals, María A.; Sanz Cob, Gracia; Criado Illana, Elena; Garrido Herrero Sofía; López Granados, Eduardo; López-Trascasa, Margarita

*Centro de trabajo:* Unidad de Inmunología, Hospital Universitario La Paz

*Provincia:* Madrid

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

#### Introducción:

Ante un aumento notable de las peticiones de inmunofijación, y al encontrar en numerosas ocasiones diversos y frecuentes casos en los que no se considera necesaria la determinación, decidimos establecer un protocolo preanalítico.

La inmunofijación es una técnica de laboratorio por medio de la cual se identifican inmunoglobulinas monoclonales, o las cadenas ligeras libres, en suero o en orina, cuya presencia se asocia con enfermedades con trastornos del sistema inmunitario como el mieloma múltiple y la macroglobulinemia de Waldenström. Suele realizarse cuando el proteinograma pone de manifiesto la presencia de una banda anómala que podría corresponderse con un pico monoclonal. Una vez realizado el diagnóstico, puede solicitarse a intervalos regulares para monitorizar la evolución de la enfermedad y la eficacia del tratamiento. Después de administrar el tratamiento, la inmunofijación negativa se suele considerar criterio de remisión completa.

#### Objetivos:

1º.- Establecer un protocolo para discriminar las peticiones que no son necesarias.

2º.- Registro de peticiones procesadas, rechazadas y reclamadas.

3º.- Analizar la eficacia del proceso en el ahorro de tiempo, trabajo y recursos (año 2010).

#### Material y métodos:

- Preparación de un diagrama de flujo para identificar el cumplimiento/incumplimiento con el protocolo en cuanto al procesamiento de las muestras.

- Introducción de contadores de peticiones procesadas, rechazadas y reclamadas en el programa de gestión, para seguir la eficacia del proceso.

- En caso de rechazo, incorporación al volante de nota aclaratoria sobre los motivos de rechazo para el clínico solicitante.

#### RESULTADOS:

	Total	Procesadas	Rechazadas	Reclamadas
<b>SUERO</b>	1455	495 (34,0%)	940 (64,6%)	20 (1,4%)
<b>ORINA</b>	455	302 (66,4%)	153 (33,6%)	0 (0%)
<b>Suero y orina</b>	1910 (100%)	797 (41,7%)	1093 (57,2%)	20 (1,1%)

Procesadas: Muestras en las que se ha realizado la inmunofijación, por estar de acuerdo con el protocolo.

Rechazadas: Muestras que no se han procesado, por no entrar en protocolo.

Reclamadas: Muestras que se habían rechazado según el protocolo, pero que el clínico requiere contactando con la Unidad.

#### CONCLUSIONES:

Algo más de la mitad de las solicitudes han sido rechazadas, con buena aceptación por parte de los clínicos.

En sólo un 1,1% de las solicitudes el clínico ha contactado con la Unidad para solicitar nuevamente la prueba.

El procedimiento ha demostrado un ahorro económico evidente a nivel de reactivos y ha permitido la optimización del tiempo de trabajo de la personal técnico.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 364

### ESTABLECIMIENTO DEL PUNTO DE CORTE EN EL SCREENING DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES MEDIANTE ENZIMOINMUNOANÁLISIS.

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* TERESA GERTRUDIX, MARTA SACRISTAN, RAQUEL PEREZ, JULIA ILLAN, MARIA ANGELES ESCUDERO, EVA ROMO

*Centro de trabajo:* UNILABS DIAGNOSTICOS S.L.U

*Provincia:* MADRID

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

#### INTRODUCCION:

Los anticuerpos antinucleares (ANA) aparecen normalmente en enfermedades reumáticas sistémicas. La inmunofluorescencia indirecta (IFI) se utiliza como método de referencia en la detección de ANA. A pesar de que la IFI es una prueba muy sensible, es muy laboriosa cuando se debe analizar un elevado número de muestras. Además, al ser subjetiva, está sujeta a errores propios de interpretación. La IFI sobre células Hep-2 está también sujeta a otras limitaciones. La prueba de EIA es una alternativa excelente a la IFI para el screening de la presencia de ANA de significado clínico. La prueba de EIA analiza eficientemente grandes cantidades de muestras y reduce la subjetividad.

#### Objetivos:

Comprobar que el cut-off con el que trabajamos es el adecuado.

#### MATERIAL Y METODOS:

-Equipo de ELISA TRITURUS (Grifols).

-Reactivos Seraquest ANA screening (Grifols).

-Portas de HEP-2 (BioSystems).

-292 sueros de pacientes con ANA screening positivo.

#### CONCLUSION:

Después de haber realizado nuestro estudio con 292 pacientes, hemos observado que trabajamos con un cut-off adecuado, a pesar de que el 40% de los pacientes son falsos positivos en el screening.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 431

### DIAGNÓSTICO INMUNOFENOTÍPICO DE LA LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA (LLC) DE CÉLULAS B MEDIANTE CITOMETRÍA DE FLUJO

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* MUÑOZ SANJUÁN MARÍA ISABEL, MELERO RUIZ JOSEFA, FERNÁNDEZ CAVADA MARÍA, VALLCORBA-GÓMEZ ISABEL.

*Centro de trabajo:* SERVICIO DE INMUNOLOGÍA Y GENÉTICA HOSPITAL INFANTA CRISTINA.BADAJÓZ

*Correo electrónico del primer firmante:* mamusa5@hotmail.com

#### INTRODUCCIÓN

El estudio inmunofenotípico mediante citometría de flujo (CMF) en las neoplasias hematológicas es fundamental para la identificación de la estirpe celular implicada y su cuantificación. La leucemia linfática crónica (LLC) es la leucemia más frecuente en la población adulta y se caracteriza por la proliferación clonal de un linfocito B maduro CD5+. El estudio inmunofenotípico de estas células es útil para el diagnóstico, además la expresión de algunos marcadores tiene valor pronóstico. Analizamos la caracterización inmunofenotípica mediante CMF de las muestras recibidas en la Unidad de Citometría con diagnóstico probable de LLC en los tres últimos años.

#### Material y métodos:

Se han analizado 44 muestras remitidas desde los servicios de hematología de las áreas sanitarias de: Badajoz (30), Mérida (4), Don Benito-Villanueva (9) y Llerena (1). El diagnóstico de presunción fue de LLC (28), síndrome linfoproliferativo crónico (5), linfocitosis (2) y sin diagnóstico (9). Los pacientes estudiados tienen edades comprendidas entre 50 y 80 años (media de 67 años) y la incidencia por sexo es prácticamente la misma

(ratio hombre:mujer de 1,2).

Se realiza estudio inmunofenotípico en sangre periférica anticoagulada con EDTA. Se incubaba la muestra con una batería de anticuerpos monoclonales (AcMo) marcados con una combinación de 4 fluorocromos (FITC, PE, PerCpCy5.5, APC). Se estudia la expresión en superficie de los siguientes marcadores: CD45, CD19, CD5, CD43, CD23, CD20, CD22, CD79b, FMC7, CD38, CD10, cadenas ligeras kappa y Lambda así como la expresión intracitoplasmática de ZAP70. El método utilizado para marcar incluye lisado y lavado de la muestra.

Las muestras se adquieren en un citómetro de flujo FACSCalibur (Becton-Dickinson) con el software CellQuest-Pro y se analizan con el Paint-a-gate.

## RESULTADOS:

De las 44 muestras estudiadas:

– 38 muestras presentan un fenotipo de LLC típica: CD45+, CD19+, CD5+, CD43+, CD23+, CD20 débil, CD22 débil en 35 muestras y negativo en 3, CD10-, CD79b - ó débil en 30 muestras y + de intensidad media en 8, FMC7 - ó débil en 34 y positivo de intensidad media en 4, CD38 negativo en 29 muestras y positivo en 9. La expresión de cadenas ligeras kappa/lambda de débil intensidad, siendo la expresión kappa la más frecuente (28 muestras). La expresión intracitoplasmática de ZAP70 fue positiva en 15 muestras, negativa en 20 y no se determinó en 3 muestras.

– 2 muestras presentan un fenotipo de LLC atípica CD5+ :

- CD45+, CD19+, CD5+, CD43-, CD23+, CD20 intensidad media/alta, CD22 débil, CD10-, CD38+, CD79b débil, FMC7+, expresión de cadenas ligeras lambda débil y expresión intracitoplasmática ZAP70 negativa.

- CD45+, CD19+, CD5+, CD43-, CD23+, CD20+, CD22+, CD10-, CD38+, CD79b+, FMC7+, expresión de cadenas ligeras kappa de intensidad media y expresión intracitoplasmática ZAP70 negativo.

– 3 muestras presentan un fenotipo compatible con linfoma del manto a las que se realizó estudio de reordenamiento de ciclina D1 por FISH:

- 2 con fenotipo: CD45+, CD19+, CD5+, CD43-, CD23-, CD20+, CD22+, CD10-, CD38, CD79b+, FMC7+, ZAP70 negativo, expresión de cadenas ligeras kappa media/alta. Reordenamiento de ciclina D1 por FISH negativo.

- 1 con fenotipo: CD45+, CD19+, CD5+, CD43+, CD23 débil, CD20 intensidad media/alta, CD22 débil, CD10-, CD38+, CD79b+, FMC7+, CD11c-, ZAP70 negativo y expresión media de cadenas ligeras kappa. Reordenamiento de ciclina D1 positivo.

– 1 muestra presenta un inmunofenotipo no característico de LLC (CD5-): CD45+, CD19+, CD5-, CD43-, CD23+, CD20 intensidad alta, CD22+, CD10-, CD 38-, CD79b+, FMC7+, CD11c+, ZAP70 no determinada y expresión de cadenas ligeras kappa débil.

## CONCLUSIÓN

De las 44 muestras estudiadas, 38 (86,4%) presentan un fenotipo de LLC típica, 4 (9%) de LLC atípica CD5+, 1 (2,3%) con fenotipo no característico de LLC sin expresión de CD5. En un caso se estableció el diagnóstico de linfoma del manto.

De los casos catalogados como LLC típica, el 39, 5% mostraban expresión de Zap70, asociada a un peor pronóstico. No se observa una buena correlación entre la expresión de este marcador y la de CD38, también relacionado con peor pronóstico: en 5 casos ambos son positivos, en 17 ambos marcadores eran negativos y en otros 17 casos había discordancia entre ellos.

# MICROBIOLOGÍA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 001

## ESTUDIO DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS CEPAS DE STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE AISLADAS EN EL HOSPITAL ALTO GUADALQUIVIR DE ANDÚJAR.

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* María del Carmen Rodríguez López, Estrella Navarro Martín, José Miguel Aguilar Benítez y Jose Miguel Diaz Iglesias.

*Centro de trabajo:* Hospital Alto Guadalquivir.

*Correo electrónico del primer firmante:* mcrodriguezl@ephag.es

### Introducción:

*Streptococcus pneumoniae* (neumococo) es el principal agente etiológico de la neumonía adquirida en la comunidad, así como de los principales procesos infecciosos de vías respiratorias altas: otitis media, sinusitis, conjuntivitis.

En los últimos años, este germen ha mostrado patrones de resistencia variables frente a los antibióticos empleados para su tratamiento. Las tasas de resistencia varían en función de la zona geográfica, y además pueden evolucionar y cambiar a lo largo del tiempo. Por este motivo es imprescindible mantener una vigilancia continua de las resistencias mostradas por esta bacteria con objeto de poder establecer las pautas terapéuticas de tratamiento empírico más adecuadas.

### Objetivo:

Determinar la sensibilidad antibiótica de las cepas de neumococo y los serotipos más prevalentes hallados en nuestra población de referencia.

### Material y métodos:

Se estudiaron todas las cepas de neumococo aisladas en el Hospital Alto Guadalquivir de Andújar desde septiembre de 2009 hasta febrero de 2010.

La identificación se realizó mediante prueba de sensibilidad con disco de optoquina de 5 mcg (etilhidrocupreína Taxo P). El antibiograma se realizó mediante prueba de difusión disco-placa con el método de Kirby-Bauer, empleando discos de oxacilina de 1 mcg (Penicilina), cefotaxima de 30 mcg, eritromicina de 15 mcg y levofloxacina de 5 mcg. Los resultados se interpretaron según las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute. Posteriormente se enviaron las cepas al Centro Nacional de Microbiología para la determinación de la Concentración mínima inhibitoria a estos antibióticos y realización de serotipado.

### RESULTADOS:

Se obtuvieron un total de 10 aislamientos de neumococos, de los cuales 1 correspondía a un paciente pediátrico de 2 años y 9 a pacientes adultos con edades comprendidas entre 57 y 89 años. Del global de muestras: 8 procedían de vías respiratorias bajas (esputo, lavado bronco-alveolar) y 2 de hemocultivos. El 50% de las cepas mostraron resistencia o sensibilidad disminuida a penicilina, un 20% fueron resistentes a eritromicina, y no se hallaron resistencias a cefotaxima y levofloxacina.

Los neumococos resistentes a penicilina correspondían un 80% a vías respiratorias bajas y un 20% a hemocultivos, mientras que de los resistentes a eritromicina, el 50% procedían a vías respiratorias bajas y un 50% de hemocultivos.

### CONCLUSIONES:

La resistencia a penicilina y eritromicina de los neumococos de nuestra área es similar a la descrita en la literatura a nivel nacional. Es destacable la ausencia de resistencias a los antibióticos cefotaxima y levofloxacina, convirtiéndolos en buenas alternativas terapéuticas para tratamientos de infecciones sistémicas graves producidas por este germen.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 002

## EJEMPLO DE BUENAS PRÁCTICAS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA EN UN CASO DE CISTITIS INCRUSTANTE POR CORYNEBACTERIUM UREALYTICUM.

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Estrella Navarro Martín, María del Carmen Rodríguez López, José Miguel Aguilar Benítez y Jose Miguel Diaz Iglesias.

*Centro de trabajo:* Hospital Alto Guadalquivir

*Provincia:* Jaén

*Correo electrónico del primer firmante:* enavarro@ephag.es

### Introducción:

*Corynebacterium urealyticum* es una bacilo gram-positivo con morfología difteroides que forma parte de la flora bacteriana de la piel, principalmente en la región perigenital. Este germen puede comportarse como patógeno oportunista del aparato urinario. La infección se inicia a partir de un inóculo abundante y de maniobras que faciliten la penetración del

microorganismo (sondaje, cistoscopia, cirugía y trasplante) provocando cuadros de cistitis aguda y crónica (incluida la cistitis incrustante), pielonefritis, pieloureteritis y sepsis. La orina de estos paciente presenta un pH característicamente alcalino, hematuria y en el sedimento urinario suelen observarse cristales de estruvita (fosfato-amónico-magnésico). Esta bacteria crece muy lentamente a 37 °C, apareciendo como colonias puntiformes a las 18 horas de incubación, por lo que pueden pasar desapercibidas en los medios que habitualmente se emplean para el cultivo de orina.

### Objetivo:

Demostrar que la aplicación de nuevos procedimientos de mejora en el diagnóstico microbiológico de infección del tracto urinario permite el diagnóstico de nuevas patologías como la cistitis incrustante.

### Material y métodos:

Ejemplo de un caso clínico: paciente mujer de 85 años que acude a consulta de urgencias del Hospital Alto Guadalquivir de Andújar, con síndrome febril de foco urinario y hematuria. Se le solicita ecografía renal vesical y pruebas de laboratorio.

En las pruebas de laboratorio se determina sistemático urinario en el analizador automático Aution Max AX-4280 (Menarini). Para el estudio microbiológico se realiza cultivo cuantitativo en Agar Cled (Biomerieux) y aislamiento en Agar Sangre (Biomerieux). Tras 18 horas de incubación aparecen colonias muy pequeñas y apenas visibles. Tras la revisión del sistemático urinario se reincuban las placas 48 horas, se realiza tinción de Gram, un Api Coryne (Biomerieux) y antibiograma de *Corynebacterium* en placas de Mueller-Hinton Sangre (Biomerieux) mediante disco difusión Kirby-Bauer. En la imagen de ecografía renal vesical se observa la vejiga distendida, con coágulos en su interior.

### RESULTADOS:

El sistemático urinario presentó un pH de 9 y hematíes positivos. En sedimento urinario se observa presencia de cristales de estruvita y abundantes hematíes.

Tras reincubar las placas 48 horas, aparecieron colonias redondas lisas, blanquecinas y catalasa positiva. En la tinción de gram se observaron al microscopio bacilos gram-positivos agrupados. El Api de Coryne da el siguiente biotipo 2, 1, 0, 1, 0, 0, 4 correspondiendo a *Corynebacterium urealyticum*, con el siguiente antibiograma: sensible a eritromicina, rifampicina, tetraciclina y vancomicina. Siendo resistente la cepa a ciprofloxacina, cefalotina, penicilina, amoxicilina-clavulánico, cotrimoxazol, cloramfenicol y gentamicina.

### Conclusión:

El manejo de nuevos procedimientos en microbiología mejora el diagnóstico y ayuda a la detección de este patógeno oportunista que produce cuadros de cistitis incrustante. En este caso fue crucial la realización del sistemático y sedimento urinario para llegar al diagnóstico definitivo. Por tanto, consideramos que sería una buena práctica reincubar hasta 48 horas las placas de cultivo de aquellas orinas con pH>7 y hematuria para descartar la posibilidad de una cistitis incrustante por *Corynebacterium urealyticum*.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 008

## GASTROENTERITIS POR SALMONELLA SPP. EN EL ÁREA SANITARIA NORTE DE HUELVA.

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Garcia Vela, Jose Herminio, Franco Alvarez de Luna, Francisco y Santos Gomez, Luis

*Centro de trabajo:* Area de Gestion Sanitaria Norte de Huelva. Laboratorio Microbiologia. Servicio:

*Correo electrónico del primer firmante:* jhgvela@yahoo.es

### Introducción/Objetivos:

La elevada incidencia de los procesos infecciosos gastrointestinales en la población, junto a un elevado índice de morbi-mortalidad en determinados grupos de edad (niños y ancianos) hace que este tipo de patología constituya un motivo de especial interés clínico y microbiológico. La enteritis por *Salmonella* spp. se trata de una toxoinfección alimentaria que se manifiesta como una diarrea aguda tras un período de incubación de 10 a 48 horas. Suele producir fiebre elevada, dolor abdominal y deposiciones diarreicas, que en ocasiones pueden contener sangre y pus. El cuadro suele ser autolimitado y se resuelve en 3 a 4 días. El diagnóstico clínico se confirma mediante el coprocultivo. El objetivo de este trabajo es el estudio de la prevalencia de la GEA por *Salmonella* spp. en el Área Sanitaria Norte de Huelva, durante los años 2007 a 2010.

### Material y método:

Durante el periodo de estudio (2007-2010) se procesaron un total de 2368 muestras de heces. Todas las muestras clínicas de heces se procesaron según los protocolos habituales de nuestro laboratorio. Las muestras fueron sembradas en los siguientes medios de cultivo: Agar Sangre, Agar MacConkey, Agar *Salmonella*-*Shigella* (SS), Agar Yersinia, Agar *Campylobacter*, y medio Selenito (de Biomerieux® y Soria-Melguizo®). A las colonias sospechosas y morfológicamente compatibles con *Salmonella* spp. (Colonias SH2+ en



Agar SS y lactosa negativa en Agar MacConkey) se les sometió a una prueba de aglutinación en portaobjetos mediante antígenos somáticos (O). Se comenzó enfrentando las cepas al antisero Polivalente (A-I & Vi) que abarca los grupo A hasta G. En el caso de que se produjera aglutinación, procedimos a enfrentar la cepa con los antiseros individuales para determinar el serotipo específico al cual pertenecía el aislado. En caso de no obtuviéramos aglutinación con el antisero Polivalente A-I & Vi, analizamos el aislado con el antisero Vi. Finalmente, a todos los aislados que aglutinaron con el antisero Polivalente A-I & Vi, se les realizó una identificación adicional y estudio de sensibilidad a los antimicrobianos mediante el Sistema automatizado MicroScan (Siemens®).

## RESULTADOS:

Durante el periodo de estudio (2007-2010) se han procesado un total de 2368 muestras de heces, de las cuales se aisló *Salmonella* spp. en 204 (8.61%). Por año y tipo de *Salmonella* aislamos: en 2007, 52 (8.57%), en 2008, 56 (10.48%), en 2009, 57 (8.67%) y en 2010, 39 (6.85%). En el último año se ha producido un descenso en el número de aislados totales, posible consecuencia de las políticas sanitarias aplicadas en el Área de Salud objeto de estudio (lavado de manos, etc.). En la siguiente tabla se muestra el número de aislados resistentes a los antimicrobianos: ciprofloxacino, ampicilina y cotrimoxazol, durante el periodo de estudio. A destacar la ausencia de resistencia frente a las quinolonas, tratamiento de elección de la GEA por *Salmonella* spp.

Año/antimicrobiano	ciprofloxacino	ampicilina	cotrimoxazol
2007	0 (0%)	13 (100%)	6 (46.15%)
2008	0 (0%)	24 (72.72%)	6 (18.18%)
2009	0 (0%)	15 (39.47%)	1 (2.63%)
2010	0 (0%)	11 (57.89%)	1 (5.26%)

## CONCLUSIONES:

Aunque el número de muestras clínicas se ha mantenido durante estos cuatro años, el número de episodios producidos por *Salmonella* spp., en nuestra Área de Salud, ha disminuido considerablemente en el último año, debido principalmente a los programas higiénico sanitarios desarrollados. En nuestra área de influencia la mayoría de las manifestaciones de diarrea han sido producidas por virus siendo un porcentaje pequeño, pero no menos importante, las producidas por microorganismos (en nuestro estudio, *Salmonella* spp.). En cuanto a la sensibilidad a los diferentes antimicrobianos, es de destacar, la ausencia de resistencias frente al grupo de las quinolonas y la disminución frente antimicrobianos empleados como alternativas al tratamiento, como el cotrimoxazol.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 009

## PREVALENCIA DE SIFILIS EN EL AREA DE GESTION SANITARIA NORTE DE HUELVA DURANTE LOS AÑOS 2002/2010.

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: García Vela, Jose Herminio y Franco Alvarez de Luna, Francisco, Santos Gomez, Luis

Centro de trabajo: Area de Gestion Sanitaria Norte de Huelva. Laboratorio Microbiología. Servicio:

Correo electrónico del primer firmante: jhgvela@yahoo.es

## Introducción / Objetivos:

La sífilis es una enfermedad de transmisión sexual causada por la espiroqueta *Treponema pallidum*, que en la mayoría de los casos se adquiere por contacto sexual directo con una persona en el estadio primario de la enfermedad. La enfermedad se transmite durante el estadio primario, secundario y de latencia, pero no durante el periodo de sífilis tardía. La contagiosidad decrece a partir de los dos primeros años de tener la infección. El riesgo de adquirir sífilis de una persona infectada, varía entre el 10 y 60%. Como regla general un tercio de personas con una exposición a sífilis precoz llegan a infectarse influyendo diversos factores en la transmisión de la infección, como: número de exposiciones, modalidad de actividad sexual, morfología y distribución de las lesiones en la pareja afectada. Las infecciones de transmisión sexual (ETS) han aumentado en España en los últimos años. La sífilis es una de las enfermedades que más ha aumentado ya que, en tan sólo diez años, los casos debidos a esta infección han llegado a alcanzar los 1.734, duplicándose así en tan sólo una década. No obstante, este aumento se está observando por igual en España y en el resto de Europa. El objetivo de nuestro trabajo es el estudio de la prevalencia de la infección por *Treponema pallidum* en el Área de Gestión Sanitaria Norte de Huelva.

## Material y método:

Durante los años 2002 a 2010 se han procesado un total de 9995 muestras de suero. Se han empleado métodos serológicos de diagnóstico indirecto. A todas las muestras se les realizó dos tipos de pruebas; Prueba Reagínica, con antígenos inespecíficos. Para ello se ha utilizado el Macro-Vue RPR Card Test® (Rapid Plasma Reagin, Becton Dickinson). Prueba treponémica, con antígenos específicos o. Para ello hemos utilizado una prueba de aglutinación del T. pallidum (TPHA®, test de hemaglutinación indirecta, Atom®). Se utilizó la prueba reagínica como screening, y todas aquellas que resultaron positivas mediante RPR, fueron tituladas y confirmadas mediante TPHA.

## RESULTADOS:

Durante el periodo de estudio (2002-2010) se han detectado un total de 16 casos de sífilis. La distribución del número de casos por año, se muestra en la siguiente tabla.

A todos los enfermos se les realizó controles para su seguimiento durante un periodo de 12-18 meses. El 37.5% de los pacientes no presentó disminución en los títulos de RPR, el 25% de los mismos presentó una disminución de los títulos de RPR y el resto de pacientes (37.5%) no se les realizó controles por parte de su médico.

Discusión: A la vista de los resultados obtenidos podemos concluir que ninguno de los enfermos de sífilis estudiados ha sido tratado en el periodo primario de la enfermedad pues sus títulos de RPR aunque han disminuido no han llegado a negativizarse en los primeros 6 meses. Por otro lado, por los datos que manejamos, podemos concluir que tampoco lo han sido en el periodo secundario de la enfermedad pues los títulos de RPR tampoco se han negativizado en 12-18 meses. Todo esto parece indicar que han sido tratados con posterioridad por eso los resultados que obtenemos del RPR son variables y solo conseguimos, en algunos casos, disminuciones de título. Según la bibliografía consultada, algunos pacientes a pesar de instaurar un tratamiento correcto en el periodo primario o secundario, no negativizan el RPR, esto ocurre aproximadamente en el 10% de los tratados. No se sabe si es por una respuesta inmune persistente o a que el foco de infección permanece. La principal utilidad de las pruebas reagínicas cuantificadas, es que nos permiten seguir la eficacia del tratamiento; aunque éstas sólo llegan a negativizarse si el tratamiento es precoz. Por otro lado tienen el inconveniente de dar falsos positivos biológicos, inconveniente que resolvemos con el empleo de técnicas más específicas como las treponémicas (TPHA). En la última década, en nuestro país, se ha observado un aumento en el número de casos de sífilis de hasta un 50%. De esta misma manera, en nuestra Área Sanitaria, hemos detectado un aumento en el número de casos, de hasta el doble de infecciones, respecto a años anteriores. En el tratamiento de la sífilis, la penicilina G por vía parenteral sigue siendo el antimicrobiano de elección en todos sus estadios. El tipo de penicilina (benzatina, procaína, cristalina acuosa), la dosis y la duración del tratamiento dependen del estadio y las manifestaciones clínicas de la enfermedad. En caso de infección primaria todos los pacientes infectados han sido tratados con 2,4 MU im en dosis única, en caso de infección primaria y 2,4 MU im semanal, tres semanas consecutivas cuando se trató de una infección crónica. Según la bibliografía revisada, en un 25% de personas no tratadas se negativiza el RPR. En nuestro estudio no se ha podido constatar pues todos los enfermos han sido tratados. Aunque la prueba cuantitativa del RPR se vuelve negativa un año después del tratamiento con éxito en la sífilis primaria y dos años después de una sífilis secundaria, en nuestro estudio sólo se ha observado una disminución de los títulos. No se debe utilizar la prueba treponémica (TPHA) para control de la infección pues una vez es positiva permanece toda la vida. Sin embargo, como hemos dicho anteriormente, hasta el 10% revierten a negativos, especialmente los tratados precozmente. En nuestro estudio ninguno de los pacientes ha negativizado el TPHA.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 023

## CULTIVOS DE EXUDADOS ANAEROBIOS EN MUESTRAS INTRAHOSPITALARIAS

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: GONZALEZ ROSA, MANUEL; DURAN POZO, MARIA JOSE; CAMARA PARRA, MARIA DEL MAR

Centro de trabajo: H.C.U. VIRGEN DE LA VICTORIA. MALAGA

Correo electrónico del primer firmante: manganros69@hotmail.com

## Introducción:

Las bacterias anaerobias se definen como aquellas que para crecer en la superficie de un medio de cultivo necesitan una atmósfera sin oxígeno, ya que este elemento es tóxico para ellas. Con estos dos conceptos se puede inferir que existe un amplio abanico de microorganismos, desde los muy tolerantes y resistentes que son los anaerobios facultativos, hasta los extremadamente lábiles a este gas que son los anaerobios estrictos. El hábitat de las bacterias anaerobias está limitado a zonas corporales del hombre y de los animales donde la tensión de oxígeno es baja. Forman parte de la microbiota normal como comensales y mutualistas, jugando un importante papel en la resistencia inespecífica a la infección.

Los anaerobios se clasifican actualmente en:

Bacilos gramnegativos: géneros *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Bifidobacterium*. Bacilos grampositivos no esporulados: *Actinomyces*, *Propionibacterium*, *Eggertella* y *Eubacterium* y *Clostridium* entre los esporulados

Cocos grampositivos: *Peptostreptococcus*, incluyendo *Anaerococcus*, *Finlandia*, *Micromonas*, *Peptoniphilus*, *Schleiferella* y el propio *Peptostreptococcus*.

Cocos gramnegativos: destaca género *Veillonella*.

## MATERIAL Y METODO:

Se recopila el total de muestras de exudados en el año 2009, procesadas en el laboratorio de microbiología del H.C.U. Virgen de la Victoria. De ellas, se extraen las muestras intrahospitalarias positivas para bacterias anaerobias. Clasificándose por orden de prevalencia.

## RESULTADO:

Durante el 2009 se recopilaron 4751 muestras de exudados. De las cuales fueron positivas para anaerobios 257. Se aíslan 169 cultivos positivos para anaerobios en muestras intrahospitalarias. Obteniendo 123 Bacteroides sp (72,78%), 18 Prevotella sp (10,65%), 6 Propionibacterium sp (3,55%), 7 Peptostreptococcus sp (4,14%), 13 Clostridium sp (7,69 %), 1 Veillonella (0,59 %), 1 Actinomyces sp (0,59%)

## CONCLUSIONES:

El 65,78% de cultivos positivos para anaerobios se da en muestras intrahospitalarias, motivo para centrar nuestro estudio en estas muestras.

El género con mayor presencia es el Bacteriodes con 72,78% de total, siguiéndole el género Prevotella con 10,65% de cultivos aislados.

A pesar de la importancia y gravedad del género Clostridium, este sólo nos aparece un tanto por ciento poco relevante en nuestro estudio.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 032

## ESTUDIO DEL TROPISMO VIRAL Y ANTAGONISTAS DE CCR5 EN PACIENTES CON INFECCION POR EL HIV-1

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: MOCHOLI MORENO,SUSANA; ESTEVE JIMENEZ,ROSA; HIDALGO SANCHIS, AMPARO Y RODRIGUEZ LOPEZ, Mª CARMEN

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO LA FE

Provincia: VALENCIA

Correo electrónico del primer firmante: susanamocholi@hotmail.com

## RESUMEN:

El conocimiento del fenómeno del tropismo viral así como los mecanismos moleculares implicados nos ha permitido conocer mejor la asociación entre el tropismo viral y la tasa de progresión de la infección. En los últimos años se ha relacionado el tropismo viral por los receptores de quimiocinas CCR5y CXR4, con la evolución de la infección y la progresión de la enfermedad. Las variantes R5-trópicas parecen ser las responsables de la transmisión y establecimiento de la infección por HIV-1 independientemente de la ruta de transmisión, predominando durante la etapa asintomática. Las variantes X4-trópicas emergen en un 40-60% de los individuos en etapas más avanzadas de la enfermedad y su aparición se ha asociado con una rápida caída de los linfocitos Tcd4+ y con una progresión más rápida de la enfermedad. La reciente introducción de Maraviroc, el primer antagonista de CCR5, en el arsenal terapéutico frente al HIV ha supuesto una revolución en los principios de tratamiento antirretroviral. A diferencia de los Fármacos disponibles hasta el momento que tenían como diana una proteína viral, Maraviroc bloquea un receptor de las células. En este sentido, sólo son susceptibles a responder a Maraviroc los pacientes con una población viral con tropismo R5. Por lo tanto hay que hacer una prueba de tropismo antes de indicar el fármaco.

## Objetivo:

Estudiar la distribución de las variantes R5 y X4 trópicas en 32 pacientes con infección por el HIV-1 y que no habían sido sometidos a tratamientos antirretrovirales previos.

## MÉTODOS

Se han estudiado muestras de plasma correspondientes a 32 pacientes con infección por el HIV-1 con cargas virales superiores a 5000copias/ml. Las muestras tras extracción automática de ARN (EasyMag BioMérieux), fueron sometidas a amplificación y posterior secuenciación mediante dos técnicas, en primer lugar la incluida en el Trugene HIV-1 Genotyping Kit (Siemens) que permite determinar la secuencia de los genes de la proteasa (PR) y transcriptasa inversa (RT) y en segundo lugar, la técnica de secuenciación del gen V3 de la envuelta viral descrita por Poveda, et al (AIDS; 2010). Las secuencias obtenidas por este último método fueron analizadas mediante el algoritmo Geno2pheno (<http://coreceptor.bioinf.mpi-inf.mpg.de/index.php>).

## RESULTADOS:

De los 32 pacientes estudiados, para los genes de la PR y RT sólo 5 presentaban resistencia inicial a inhibidores de la proteasa (Indinavir y Fosamprenavir) siendo sensibles para el resto de los fármacos. Con respecto al gen V3, 25 presentaron variantes R5 trópicas, por lo tanto sensibles a Maraviroc, y 7 aparecieron resistentes al presentar virus X4 trópicas.

## CONCLUSIONES:

Se observa que las variantes dominantes en este tipo de pacientes son la R5 trópicas (25/32) lo cual permite instaurar una terapia base optimizada por la combinación de un antagonista de CCR5 (Maraviroc) y los correspondientes inhibidores de la proteasa y la transcriptasa inversa (análogos y no análogos de los nucleósidos).

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 033

## (PARASITOSIS INTESTINALES EN GIRONA - 2008-2009)

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: (POZAS DATORRE,Mª BELÉN, ROJAS MARTÍN,ANTONIA, VILARNAU PUIGNAU,ANNA)

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DR. JOSEP TRUETA DE GIRONA

Correo electrónico del primer firmante: xavibelen@ono.com

## Introducción:

Las parasitosis intestinales se encuentran entre las enfermedades infecciosas más prevalentes a nivel mundial, situándose en tercer lugar detrás de las infecciones respiratorias y las diarreas. Son enfermedades de muy fácil transmisión y por tanto, difíciles de controlar, especialmente en países con deficientes condiciones higiénicas.

## Objetivos:

Conocer cuales son las parasitosis más prevalentes en nuestra área de influencia, que cuenta con un elevado índice de población inmigrante. Para ello se realiza un análisis retrospectivo de las parasitosis detectadas en nuestro hospital durante los años 2008-2009.

## Material y métodos:

Análisis microscópico de materia fecal, previamente conservada con fijador SAF (ácido acético, formol y acetato sódico) y concentrada por centrifugación sedimentación. Caso de sospechar parasitismo por oxiuros, se realiza el test de Graham. La identificación es macroscópica si la muestra aportada son ejemplares de helmintos adultos (Ascaris, proglótides de Taenia, etc)

## RESULTADOS:

Durante este periodo se han examinado 9830 muestras, de las cuales 966 han resultado con algún grado de parasitismo (9.72%).

Los porcentajes se han establecido en función del número de parásitos encontrados por cada uno de los grupos establecidos.

Helmintos: 88 (9.11%): Hymenolepis nana 36 (40.90%) Enterobius vermicularis 16 (18.18%), Ascaris lumbricoides 10 (11.36%), Trichuris trichiura 10 (11.36%), Taenia saginata 6 (6.82%), Taenia especies 4 (4.54%), Dicrocoelium dendriticum 2 (2.28%), Strongyloides stercoralis 2 (2.28%), Schistosoma mansoni 2 (2.28%)

Protozoos: 878 (90.89%): Giardia intestinalis 376 (42.82%), Entamoeba coli 208 (23.70%), Dientamoeba fragilis 154 (17.54%), Endolimax nana 59 (6.72%), Blastocystis hominis 51(5.81%), Entamoeba histolytica/dispar 24 (2.73%), Iodamoeba butschlii 5 (0.57%), Entamoeba hartmanni 1 (0.11%).

## CONCLUSIONES:

Hymenolepis nana fue el helminto mas frecuente seguido de Enterobius vermicularis, Ascaris lumbricoides y Trichuris trichiura.

En el grupo de los protozoos destaca la parasitación por Giardia intestinalis.

Si bien el Hymenolepis nana fue el helminto observado un mayor número de veces, cabe destacar que la práctica totalidad correspondía a niños saharauis acogidos durante el verano.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 034

## ENTEROBACTERIACEAE PRODUCTORAS DE SS -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO: EVALUACION Y LIMITACIONES DE UN MEDIO CROMOGENICO, BRILLIANCE-ESBL ( OXID )

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: BARRERA CASTAÑO, BENITA; GIL ROMERO, YOLANDA

Centro de trabajo: HOSPITAL GENERAL DE MOSTOLES (MADRID)

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

## Introducción: y Objetivo:s

La rápida y progresiva diseminación de las betalactamasa de espectro extendido (BLEE) entre las enterobacterias (EB) constituye un motivo añadido de preocupación en el control y manejo de las infecciones causadas por estos microorganismos.

Nosotros hemos valorado la capacidad diagnóstica de un medio cromogénico (Brilliance-ESBL, Oxoid) al enfrentarse a aislamientos clínicos de EB presuntamente productoras de ESBLs, comparando los resultados con los obtenidos mediante el método de referencia (tiras de E-Test,bioMérieux) así como su rendimiento en muestras de orina artificialmente contaminadas con diferentes concentraciones de EB productoras de ESBLs.

## Métodos

Un total de 60 aislamientos clínicos de EB caracterizadas previamente mediante un sistema automatizado (Vitek2, bioMérieux) como productoras de ESBLs y otras 20 cepas no productoras de las mismas, fueron sembradas a una concentración final de 105 cfu/ml en placas de Brilliance-ESBL, y en paralelo fueron valoradas mediante E-test de ceftazidima y cefotaxima con y sin el añadido de ácido clavulánico. Como control positivo se utilizó la cepa Klebsiella pneumoniae ATCC 700603, mientras que como control negativo se empleó E.coli ATCC 25922. La identificación de los microorganismos se llevó a cabo mediante pruebas bioquímicas convencionales. Además, cada una de las cepas de la serie se inocularon en muestras de orina, procedentes de pacientes con otras patologías, previamente seleccionadas por no albergar microorganismos productores de ESBLs, a 3 concentraciones, 105, 103 y 10 ufc/ml subcultivándose en paralelo cada una de ellas en agar-sangre (Oxoid, England) y Brilliance-ESBL.

## RESULTADOS:

En todas las cepas estudiadas, caracterizadas previamente como productoras de ESBLs, se demostró la presencia de ESBLs mediante E-test de CAZ-CL y/o CTX-CL. Brilliance-ESBL detectó el crecimiento del 100% de las mismas a las 24 horas de incubación. Todas las cepas de E.coli estudiadas producían una coloración azul-noche, mientras que en las cepas restantes correspondientes a organismos no-E. coli, una coloración verde-prado se observó con aislamientos de K. pneumoniae o Enterobacter cloacae y otra color crema para cepas de P. vulgaris. Entre las cepas no productoras de ESBLs (20), 7 cepas de E.coli presumiblemente productoras o hiperproductoras de TEM-1, TEM-2 ó SHV-1 y 4 cepas de E.coli con sobreexpresión de AmpC no crecieron en Brilliance-ESBL, mientras que las restantes 8 cepas de E. cloacae y 1 de E.coli desreprimidas e hiperproductoras de AmpC, sí crecieron en el medio cromogénico estudiado. La recuperación de los microorganismos a las diferentes concentraciones empleadas fue en todo similar a la obtenida en medios de cultivo convencionales como agar-sangre.

## CONCLUSIONES:

1. Brilliance-ESBL mostró una excelente capacidad para el aislamiento de cepas de EB productoras de ESBL.
2. Sin embargo las cepas de E. cloacae hiperproductoras de cefalosporinas desreprimidas son capaces de crecer en este medio.
3. Brilliance-ESBL mostró una correlación completa en la identificación de las especies bacterianas estudiadas (E.coli vs. no-E.coli), aunque no establece diferencias entre estos últimos (K. pneumoniae ó E. cloacae).
4. Brilliance-ESBL presenta el mismo dintel de detección que los medios no específicos, recuperándose recuentos similares a los obtenidos en agar-sangre.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 039

## COMPARACION DE DOS MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN PARA STREPTOCOCCUS BOVIS

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Gandía González María Aránzazu, Vázquez Barba Isabel Dolores, Pupo Ledo Inmaculada, Lepe Jiménez Jose Antonio.

Centro de trabajo: H.H. U.U. Virgen del Rocío

Provincia: Sevilla

Correo electrónico del primer firmante: agandia21@hotmail.com

## Introducción:

Los streptococos bovis son cocos gram positivos, que se encuentran normalmente en el intestino vacuno y puede contaminar al hombre a través de las heces, el agua y los alimentos de origen animal, pudiendo vivir como flora saprofita en el 10% de los seres humanos. Pueden convertirse en patógenos en individuos inmunodeprimidos, ancianos o con enfermedades debilitantes. Se describen 3 biotipos de S. Bovis: S. Bovis I (S.galloyticus subsp. Galloyticus) asociado, según la literatura a lesiones malignas de colon; S.bovis II-1 (S.infantarius subsp.coli); y S.bovisII-2 (S.galloyticus subsp. Pasterianus), productor con más frecuencia, según la literatura, de endocarditis infecciosa. En base a esto, se deduce que es importante la correcta identificación de estos microorganismos a nivel de especie y, dadas las repercusiones clínicas para el paciente, la identificación adecuada del biotipo.

## Objetivo:

Comparar dos métodos de identificación: panel combo POS MicroScan vs galería de API Strep.

## Materiales y Método:

Se estudiaron 26 aislamientos de S.bovis correspondientes pacientes individuales con Dx clínico de bacteriemia, recogidas entre los años 2006-2010. A todos se les realizó: 1) identificación mediante panel para gram positivo (POS combo panel MicroScan Siemens) que fue leído en el sistema semiautomático AutoScan, y 2) identificación mediante API utilizando la galería 20 Strep (bioMérieux) con lectura manual.

## RESULTADOS:

La galería API 20 Strep identificó el 100% de las cepas como S.bovis, siendo identificado a nivel de biotipo el 57,7% como S.bovis I (con un nivel de confianza entre el 99,28% y el 99,98%), el 23% como S.bovis II-2 (con un nivel de confianza entre el 99,12% y el 99,98%), el 7,69% como S.bovis II-1 (con un nivel de confianza del 66,71%), el 7,69% como S. bovis y el 3,84% como S.bovis 3.

El panel combo identificó el 76,92% de las cepas como S. bovis, siendo identificado el resto como: S. mutans (7,69%), S. mitis/oralis (7,69%), S. Salivarius (3,84%), y S.anginosus (3,84%). Aunque el biotipo no pudo ser determinado inicialmente, utilizando las pruebas del panel podemos identificar 3 patrones de positividad, que corresponden a:

- 1) S.bovis I: VP:+, ESC:+, LAP:+, MAN:+, LAC:+, TRE:+, RAF:+, AMD:+, GLYC:+
- 2) S.bovis II-2: VP:+, ESC:+, aGAL:+, bGUR:+, bGAL:+, LAP:+, LAC:+, TRE:+, RAF:+
- 3) S.bovis II-1: VP:+, LAP:+, LAC:+, TRE:+, RAF:+, AMD:+

## CONCLUSIONES:

La galería API 20 Strep identifica adecuadamente S. bovis y sus biotipos, especialmente el I y el II-2, importantes en la clínica por las patologías a las que se asocian.

El panel combo POS de microScan identifica adecuadamente a nivel de especie cuando S.bovi pertenece al biotipo I ó II-2. Aunque, siguiendo los patrones de positividad antes señalados, podemos determinar los subtipos mas frecuentes del S. bovis, mediante las pruebas de identificación de panel.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 040

## DIFERENCIACION DE ESPECIES DEL COMPLEJO STREPTOCOCCUS BOVIS/EQUINUS POR ESPECTROFOTOMETRIA DE MASAS MALDI-TOF

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Vázquez Barba Isabel Dolores, Gandía González, María Aránzazu, Pupo Ledo Inmaculada, Lepe Jiménez Jose Antonio.

Centro de trabajo: H.H. U.U. Virgen del Rocío

Provincia: Sevilla

Correo electrónico del primer firmante: belyvb@hotmail.com

## Introducción:

La identificación a nivel de especie dentro del complejo Streptococcus bovis/equinus es dificultosa por métodos fenotípicos.

Actualmente la tecnología Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time Of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) ha sido aplicada a la identificación y discriminación de especies con importancia médica. Dado que la taxonomía de este grupo ha cambiado en los últimos años, el objetivo de este estudio fue caracterizar los aislamientos de complejo S. bovis/equinus provenientes de episodios de bacteriemia.

## Material y métodos:

El estudio incluyó 24 episodios de bacteriemia por S. bovis pertenecientes a pacientes individuales. Los aislamientos fueron caracterizados mediante estudio fenotípico mediante el sistema API 20 Strep (Biomérieux) y por espectrofotometría de masas mediante el sistema MALDI-TOF MS (MicroFlex Bruker). Adicionalmente se estudió la sensibilidad antibiótica a ampicilina y vancomicina mediante E-test (Biomérieux) según las instrucciones del fabricante.

## RESULTADOS:

De los 24 episodios de bacteriemia, el sistema API Strep identificó 17 de ellos como S. bovis I y 7 como S. bovis II. El sistema MALDI-TOF caracterizó como Streptococcus galloyticus 16/17 y como Streptococcus equinus 1/17 de los episodios de S. bovis I, en el caso de S. bovis II los 7 episodios fueron caracterizados como Streptococcus lutetiensis. Todos los aislamientos fueron sensibles a ampicilina (CMI50 0,125 mg/L, CMI90 0,38 mg/L) y a vancomicina (CMI50 0,125, CMI90 0,38).

## Discusión

El sistema MALDI-TOF MS (MicroFlex Bruker) es un sistema rápido y confiable para la caracterización de especies dentro del complejo Streptococcus bovis/equinus y podría sustituir a los sistemas fenotípicos clásicos para la caracterización de rutina.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 041

## DISTRIBUCION DE ESPECIES CANDIDA EN MUESTRAS VAGINALES

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: PARDO CORRAL MARIA DOLORES Y GOMEZ IRAGO MARIA MARY

Centro de trabajo: AREA SANITARIA DE FERROL.SERVICIO DE MICROBIOLOGIA

Provincia: A CORUÑA

Correo electrónico del primer firmante: lolipardo@yahoo.es

## INTRODUCCION:

Las especies de Cándidas son la causa más importante de micosis oportunistas y con mucha frecuencia causa de vulvovaginitis.

Tradicionalmente se ha considerado que no era necesario la identificación de Cándida sp, ya que C.albicans constituía la etiología en el 90% de los episodios; sin embargo en los últimos años se ha visto un aumento progresivo de especies no albicans en procesos de vulvovaginitis.

El objetivo del estudio ha sido conocer la distribución de las especies aisladas en muestras vaginales.

## MATERIAL Y METODOS:

En el Área Sanitaria de Ferrol, en el periodo de Enero de 2009 a Diciembre de 2010, se recogieron 5003 muestras de exudado vaginal.

Todas las muestras recogidas se procesaron de acuerdo a los protocolos establecidos en nuestro servicio, utilizando medios de cultivo convencionales para aislamiento de bacterias y el medio Sabouraud Gentamicina Cloranfenicol para aislamiento de levaduras.

Los cultivos se incubaron 24/48 horas a 35°C, siendo examinados visualmente a las 24 horas para evaluar la presencia y morfología de las colonias.

La identificación de la especie se realizó a partir de medios cromogénicos CHROMagar (Becton-Dickinson), test de tubo germinal y métodos estandarizados de asimilación de azúcares (API 20 CAUX Biomérieux)

En el medio cromogénico se visualizan la morfología y el color de las colonias atendiendo a las instrucciones del fabricante. C.albicans da origen a colonias verdes, C.glabrata genera un color rojizo- púrpura, C.tropicalis da colonias azules y C.parapsilosis colonias blanco marfil.

## RESULTADOS:

Se aislaron levaduras en 1378 muestras.

Las especies identificadas fueron las siguientes: 1056 cepas de *C.albicans* , 137 cepas de *C.glabrata*, 87 cepas de *C.parapsilosis*, 25 de *C.guilliermondii*., 12 de *C.krusei*, 9 cepas de *C.famata*, 8 de *C.tropicalis* y 44 de otras especies

## CONCLUSIONES:

El medio cromogénico CHROMagar nos permitió identificar correctamente 1056 cepas de *C.albicans*.

Para las especies no *albicans* fue preciso además utilizar los métodos de asimilación de azúcares (API20CAUX).

El procesamiento directo de las muestras en el medio cromogénico CHROMagar limita el uso del Test del tubo germinal y acorta considerablemente el tiempo de identificación de especies *Cándida*.

Los resultados de este estudio mantienen que las *Cándidas* son con frecuencia causa de vulvovaginitis evidencian un aumento en la incidencia de especies no *albicans*, siendo *C.glabrata* y *C. parapsilosis* las especies más aisladas, después de *C. albicans*.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 048

### RELACION ENTRE BACILOSCOPIA Y TIEMPO DE CRECIMIENTO DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS EN UN MEDIO LIQUIDO

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* M<sup>a</sup> Josefa de Cabo Morales, Encarnación Prieto del Rey, Teresa Cuadrado Benito,

M<sup>a</sup> Isabel Blázquez Mateos

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario de Salamanca

*Correo electrónico del primer firmante:* majoca63@hotmail.com

#### Introducción:

El diagnóstico microbiológico de la tuberculosis se ha visto favorecido en los últimos años por la existencia de medios de cultivo líquidos que acortan considerablemente el tiempo de incubación de *Mycobacterium tuberculosis* a partir de muestras clínicas. Ello no descarta la utilización de la baciloscopia (examen directo habitualmente por la técnica fluorocrómica de auramina) como método rápido de diagnóstico en la práctica diaria.

#### Objetivos:

Comprobar si existe relación entre baciloscopia positiva o negativa y tiempo de crecimiento de *M. tuberculosis* en un medio líquido, sistema BACTEC™MGIT™960.

#### Material y método:

Durante los años 2009 y 2010 se procesaron un total de 5693 muestras, todas ellas sembradas en medio líquido y examinadas microscópicamente mediante tinción de auramina.

En 156 muestras el cultivo fue positivo, identificándose como *M. tuberculosis*. La baciloscopia fue positiva en 85 de ellas.

Se consideraron dos periodos de crecimiento. Uno, entre 0 y 15 días y otro entre 16 y 42 días que era el máximo de incubación.

#### RESULTADOS:

Como se ve en la tabla 1, de las 85 muestras con crecimiento de *M. tuberculosis* y baciloscopia positiva 77(90.6 %) crecieron entre 0-15 días y las restantes 8(9.4 %) entre 16-42 días. El tiempo mínimo de incubación fue de 3 días.

Tabla 1 Baciloscopia positiva

Tiempo en días	Numero de muestras	%
0 ---- 15	77	90.6
16 ---- 42	8	9.4
Total	85	

En la tabla 2, de las 71 muestras con baciloscopia negativa y cultivo positivo, éste lo fue entre 0-15 días en 34(48 %) de ellas y entre 16-42 en 37(52 %). El tiempo máximo de incubación fue de 39 días.

Tabla 2 Baciloscopia negativa

Tiempo en días	Numero de muestras	%
0 ---- 15	34	48
16 ---- 42	37	52
Total	71	

#### Conclusión:

Como cabía esperar, el tiempo de incubación de *M. tuberculosis* en medio líquido, está claramente acortado cuando se trata de muestras con baciloscopia positiva, indicadora de una mayor carga bacteriana en dichas muestras.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 062

### PREVALENCIA PANTON VALENTINE LEUCOCIDINA EN STAPHYLOCOCCUS AUREUS ASOCIADO A INFECCIONES DEL TRACTO RESPIRATORIO

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Milene Gonçalves, Nádia Osório, Manuel Oliveira, Luis Duarte, Rui Tomé, João Figueiredo , 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:* milene.vieira.goncalves@gmail.com

#### Introducción:

*Staphylococcus aureus* pueden ocurrir como patógenos, en parte debido a su enorme poder de adaptación a las presiones selectivas por parte del hospedero. Esta adaptabilidad es responsable por la resistencia a los antibióticos, uno de los principales problemas asociados con estas cepas. Sin embargo, existen otros mecanismos por los que estas bacterias pueden ejercer su patogenicidad. El Pantón-Valentine leucocidina es una citotoxina formadora de poros en los leucocitos humanos codificados por los genes continuos *lukS-PV* y *lukF-PV* y pueden ser producidos por estos microorganismos, en particular por las cepas aisladas de infecciones de la piel, tejidos blandos y una neumonía devastadora que tenga una alta tasa de mortalidad, que afecta principalmente a adultos jóvenes, aparentemente sanos.

#### Objetivo:

Determinar la prevalencia de Pantón-Valentine leucocidina en *Staphylococcus aureus* asociada con infecciones del tracto respiratorio.

#### Métodos

Se estudiaron 60 cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de infecciones del tracto respiratorio, en los cuales se ha efectuado un perfil de resistencia a los antibióticos levofloxacina, gentamicina, trimetoprima / sulfametoxazol, vancomicina, oxacilina y penicilina G. Para determinar la presencia de Pantón Valentine leucocidina, se procedió a la extracción de ADN seguida por la amplificación de los genes *lukS-PV* y *lukF-PV*, utilizando la técnica de reacción en cadena de la polimerase y detección por electroforesis.

#### RESULTADOS:

Mediante el análisis del perfil de resistencia de las cepas se encontró que sólo una fue sensible a todos los antibióticos. Así, de las 59 cepas resistentes, 2 (3,4%) fueron resistentes a los antibióticos gentamicina y trimetoprim en combinación con sulfametoxazol, 46 cepas (78%) fueron resistentes a la levofloxacina, 51 cepas (86,4%) fueron resistentes a oxacilina y todas las 59 cepas fueron resistentes a la penicilina G. El gen *lukS-PV* se detectó en sólo 2 cepas (3,3%), el gen *lukF-PV* se detectó en 20 cepas (33,3%) y ambos los genes se han detectado de manera simultánea en tan sólo 2 cepas, clasificando estas cepas de PVL positivo (3,3%).

#### Discusión / Conclusión

La prevalencia de Pantón Valentine leucocidina en este estudio fue de 3,3%. La edad media de los infectados con cepas PVL positivo es de 11 años, menos que la media de edad de los individuos infectados con cepas de PVL negativa, lo que puede indicar que cepas PVL positivas infectan a los individuos más jóvenes. Las 18 cepas positivas para el gen *lukF-PV* y negativas para el gen *lukS-PV* sugieren el uso de otras técnicas para confirmar la no amplificación del gen *lukS-PV*, ya que el PVL es sólo funcional con la proteína S y F. Las 60 cepas muestran un patrón de alta resistencia a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos como la penicilina y oxacilina, sin embargo, no se ha establecido un vínculo entre las cepas PVL positivas y la resistencia a algunos antibióticos en particular.

#### Palabras-Clave:

*Staphylococcus aureus*, *LukS-PV*, *LukF-PV*, Pantón Valentine Leucocidina.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 065

### EVALUACIÓN DE LA TÉCNICA DE INMUNOBLOT EN SÍFILIS.

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Esther Messeguer García, David Antillano Martínez, Adoración Soler Fernández

*Centro de trabajo:* Hospital de la Vall d'Hebrón.

*Provincia:* Barcelona

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

#### Objetivo:

Evaluar una técnica de inmunoblot para sífilis. Se han utilizado muestras previamente analizadas mediante el diagnóstico serológico convencional utilizado en nuestro laboratorio. Éste incluye una prueba reagínica y tres pruebas treponémicas. (hemoaglutinación pasiva, inmunofluorescencia indirecta y una prueba inmunoenzimática).

#### Material y métodos:

Hemos utilizado para éste estudio, 17 sueros obtenidos de seroteca. El criterio utilizado para considerar una muestra como positiva, ha sido tener al menos dos de tres pruebas treponémicas positivas.

Han sido catalogadas 7 muestras como positivas, 6 negativas y 4 como serología discordante al no cumplir el criterio arriba mencionado y tener únicamente una de tres pruebas treponémicas positivas.

La técnica evaluada es el inmunoblot INNO-LIA Syphilis score (innogenetics Bélgica), en la que los anticuerpos detectados son específicos frente a diferentes antígenos de la bacteria *Treponema pallidum*. Son tres proteínas inmunodominantes recombinantes (Tpn15, Tpn17, Tpn47) y un péptido sintético (TmPa); todos ellos inmovilizados en tiras de nylon.

Todas las muestras utilizadas han sido testadas con RPR (Biosystem SA Spain), TPHA (Biosystem SA Spain), FTA-Abs (Biomerieux France) más una EIA para lues (Viracel Spain).

#### RESULTADOS:

Tanto en las 7 muestras positivas como en las 6 negativas se han confirmado el mismo resultado por INNO-LA. De las 4 muestras discordantes en 2 se obtuvo un resultado negativo, en una indeterminado y en la otra positiva. Por lo tanto, de estas muestras discordantes, se pudo confirmar el diagnóstico de sífilis en una de ellas al tener al menos otra prueba treponémica positiva (INNO-LIA)

#### CONCLUSIONES:

1-En el 100% de las muestras positivas o negativas por las técnicas treponémicas convencionales se obtuvo el mismo resultado por INNO-LA.

2- Por las técnicas convencionales se obtuvieron 4 resultados discordantes del total de 17 muestras analizadas, mientras que por INNO-LA se obtuvo sólo una (1/17), por lo que podría sustituir alguna de las técnicas treponémicas convencionales utilizadas en la actualidad.

3-Técnica de fácil ejecución e interpretación.

4-No requiere instalaciones especiales.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 072

### PREVALENCIA DE PACIENTES CON INFECCIÓN POR TOXINA CLOSTRIDIUM DIFFICILE EN EL LABORATORIO CLÍNICO ICS CAMP DE TARRAGONA.

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Fuentes Ramos Carmen, Arias Recasens Angels, Nadal Méndez Beatriz, Navarro Carmona Juana, Sancho Vilellas M<sup>a</sup> Jesús.

*Centro de trabajo:* Laboratori Clínic ICS Camp de Tarragona. Hospital universitari Joan XXIII.

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

#### Introducción:

El *Clostridium difficile* (C.D) es una especie eubacteriana del género *Clostridium*. Son bacilos móviles, Gram positivos, formadores de esporas y anaerobios estrictos. Menos del 3% de adultos sanos están colonizados y del 4-20% de los pacientes ingresados en centros de larga estancia están colonizados.

Descrito por primera vez por Hail y O'Toole en 1935.

En 1978 se describe como el agente responsable de la colitis pseudomembranosa, evolucionando a megacolon con una mortalidad del 32-57%.

Esta bacteria puede producir, o no, toxina A o enterotoxina y/o toxina B o citotoxina. Se disemina fácilmente entre los pacientes, siendo la causa más frecuente de diarrea nosocomial. La transmisión es fecal-oral, puede producir brotes, o epidemias importantes dentro del ámbito hospitalario. Se han identificado más de 100 tipos diferentes, siendo de particular interés el biotipo 027.

Los factores de riesgo para contraer la enfermedad son: tratamiento con antibióticos, quimioterapia, pacientes de edad avanzada y debilitados, intervención gastrointestinal y sobre todo el contacto previo con paciente enfermo o colonizado. (C.D) es el productor de un amplio abanico de enfermedades digestivas, provocando un gasto sanitario importante debido a la estancia hospitalaria así como por infecciones posteriores. Es importante mantener el aislamiento por contacto en pacientes con infección por (C.D)

#### Objetivo:

Determinar la prevalencia por procedencias y edades de individuos con infección producida por la toxina de (C.D) en el año 2010, en las muestras de heces procesadas en nuestro laboratorio.

#### Material y métodos:

Estudio descriptivo y retrospectivo de muestras en heces de 232 individuos estudiados en nuestro laboratorio para determinación de (C.D), durante el periodo comprendido entre el 01 de Enero del 2010 al 31 de Diciembre del 2010.

Para la determinación se utiliza la técnica del Test InmunoCard Toxinas A&B. Meridian Bioscience, Inc.,. Permite detectar las toxinas A&B de (C.D) en heces por EIA.

#### RESULTADOS:

De las 232 individuos en que se ha determinado la toxina de (C.D), 20 (8,62%) del total han sido positivos: 7 (35%) ingresados en el Socio Sanitario y 13 (65%) individuos en el Hospital Universitario Joan XXIII. En este centro los pacientes estaban ingresados en los servicios de Urgencias 2 (10%), Medicina Interna 4 (20%), Cirugía 2 (10%), Hematología 1 (5%), Nefrología 1 (5%), Digestivo 1 (5%) y UCI 1 (5%), Pediatría 1 (5%).

Las edades de los 20 pacientes positivos fueron: Socio Sanitario (88, 90, 60, 80, 90, 79, 72),

Urgencias (58,78), Medicina Interna (84,75,84, 60), Cirugía (80, 79) Hematología (61), Nefrología ( 64), Digestivo ( 65), UCI (64), Pediatría (1). La edad media fue 70 años (todos excepto dos pacientes, tenían más de 60 años). La distribución por sexo fue de 11 varones (55%) y 9 mujeres (45%).

#### CONCLUSIONES:

Se observa una baja incidencia de infección por CD en nuestro centro, a pesar de un alto índice de sospecha. En nuestro centro está protocolizado la determinación de Toxina de C.D en todos los pacientes con diarrea.

El estudio demuestra la prevalencia por infección de C.D en pacientes de edad avanzada.

El lavado de manos es esencial para evitar la diseminación de esta eubacteria y sus esporas.

Así como comunicar a Medicina Preventiva los casos positivos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 073

### BROTE DE NOROVIRUS EN PACIENTES HOSPITALIZADOS

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* MARÍA MONTERRAT PÉREZ MARTÍNEZ, AINARA ÁLVAREZ DE DIEGO, NÚRIA DALMAU DUCH, MARIA JESÚS LÓPEZ LADEVÉZE

*Centro de trabajo:* LABORATORI CLÍNIC ICS CAMP DE TARRAGONA

*Correo electrónico del primer firmante:* tac1962@telefonica.net

#### Introducción:

El Norovirus es la causa más frecuente de gastroenteritis infecciosa en adultos.

La enfermedad es leve, con una rápida recuperación y sin secuelas. Los brotes de gastroenteritis por el Norovirus, son frecuentes en ambientes cerrados o semicerrados, como hospitales.

La tasa de ataque es muy elevada en estos ambientes y el mecanismo de transmisión es de contacto, persona a persona o transmisión cruzada.

#### Objetivo:

Describir un brote de Norovirus que ocurrió en nuestro centro hospitalario Joan XXIII, realizando la investigación clínica epidemiológica y microbiológica.

#### Material y métodos:

Se revisaron las historias clínicas de los pacientes ingresados en la sexta planta de hospitalización convencional de nuestro centro que presentaron diarreas durante el periodo del catorce de febrero del 2010 (periodo de incubación del virus previo al primer caso), al veinte y cuatro de febrero del 2010 (corresponde al periodo de infecciosidad del último caso). A todos los pacientes se les recogió muestra para realizar coprocultivo, Toxina *Clostridium Difficile* A/B el test de diagnóstico para Norovirus, Adenovirus y Rotavirus.

Para diagnóstico de coprocultivo se sembraron las heces en los medios de cultivo selectivos y de enriquecimiento (Saboreaud-Cloranfenicol, Chapman-Manitol, Eosin-Metilen-Blue, Salmonella-Shigella, Yersinia, Campylobacter, Selenito, MacConkey, Chromagar Salmonella).

*Clostridium difficile* RIDA QUICK (N0803), test inmunocromatográfico de detección cualitativa de las toxinas A/B. de alta especificidad.

Para Norovirus se uso test rápido la RIDA QUICK (N1403), inmunocromatográfico, basado en anticuerpos monoclonales, posibilita la determinación de antígenos de norovirus en muestra para identificación cuantitativa del Genogrupo uno (GG I) y Genogrupo dos (GG II), con una sensibilidad del ochenta y seis por ciento, especificidad del noventa y cuatro coma seis por ciento.

La detección simultánea de Rotavirus y Adenovirus, Combo Adeno/Rota con el test inmunocromatográfico basado en anticuerpos monoclonales conjugados a partir de látex. De alta especificidad.

#### RESULTADOS:

En once de ellos, el test de diagnóstico del Norovirus fue positivo, en una, se obtuvo la determinación de Toxina *Clostridium Difficile* A/B positivo y en los tres restantes se obtuvo disenteria a hongo.

Todos los pacientes presentaron deposiciones diarreicas en número de cuatro a seis por día de heces líquidas, sin productos patológicos, y que duraron entre dos y tres días. Ninguno tuvo fiebre.

Los primeros casos se diagnosticaron el dieciséis de febrero y los últimos el diecinueve de febrero.

Tras la instauración de las medidas de prevención ( reforzando el lavado de manos y el uso correcto de guantes, se incremento las medidas de limpieza y descontaminación ambiental ) se da por curados el brote cinco días después del último caso y el brote fue declarado a Sanidad. (Gráfica).

#### CONCLUSIONES:

El cuadro clínico de diarreas por el Norovirus es leve. Los brotes son cortos en tiempo, con una tasa de ataque elevada.

La aplicación de las medidas de prevención adecuadas ayuda a prevenir el Norovirus y evitar los contagios a otros.

El test rápido para el diagnóstico de Norovirus es un método válido y fiable.

**DETECCIÓN DEL ANTIGENO GALACTOMANANO DE ASPERGILLUS UTILIZANDO EVOLIS TWIN PLUS**

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* ENCARNACIÓN PRIETO DEL REY, MARIA ELVA GONZALEZ GONZALEZ, BERNARDINA MARIA DOMINGUEZ, MARIA JOSEFA DE CABO MORALES.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario de Salamanca

*Correo electrónico del primer firmante:* elvag90@hotmail.com

**Introducción:**

Las infecciones fúngicas, en especial las producidas por *Aspergillus* spp, representan una de causas de mayor morbi-mortalidad en los pacientes inmunodeprimidos.

El diagnóstico micológico tradicional basado en el cultivo y aislamiento de *Aspergillus* spp a partir de muestras clínicas no es válido en estos pacientes ya que precisan mayor precocidad en el diagnóstico. El galactomanano es un antígeno de la pared de *Aspergillus* que se libera en la invasión tisular y cuya cuantificación fundamentalmente en suero, se considera hoy día una prueba útil para el diagnóstico precoz y el seguimiento de la aspergilosis invasora en neutropénicos.

Se recomienda hacer un estudio de galactomanano seriado (dos veces a la semana) considerándose positivo un índice  $\geq 0.5$  en dos muestras consecutivas ó un índice  $\geq 0.8$  en una única muestra.

**Objetivo:**

El objetivo es valorar la optimización del sistema automatizado EVOLIS Twin Plus frente a la técnica manual de detección de antígeno de galactomanano. Para ello se han revisado y comparado las determinaciones de galactomanano realizadas durante tres meses con cada uno de los métodos, comparando los resultados.

**MATERIAL Y MÉTODO**

La detección de galactomanano se realiza mediante un ELISA de doble sándwich que emplea un anticuerpo monoclonal dirigido contra el galactomanano de *Aspergillus* que es utilizado como captor y detector del antígeno. Esta prueba está disponible comercialmente (Platelia *Aspergillus*® EIA (Bio Rad)).

La técnica consta de los siguientes pasos: procesamiento de muestras, tratamiento de los sueros, pipeteado de sueros y conjugado, lavado, solución revelado, solución parada y lectura de la placa.

La determinación de esta técnica se ha venido realizando manualmente hasta agosto de 2010. Posteriormente se ha incluido el procesador automatizado de microplacas EVOLIS Twin Plus que, con excepción de los dos primeros pasos, realiza automáticamente todo el proceso.

**RESULTADOS:**

En los meses de mayo, junio y julio se recibieron un total de 672 muestras (incluyendo suero, LCR y LBA) para estudio de detección de antígeno de galactomanano. Todas ellas se procesaron manualmente, agrupadas en bloques (20-30 muestras) en un total de 25 ensayos. De éstos, 22 fueron validados y 3 invalidados.

Durante los meses de setiembre, octubre y noviembre se procesaron automáticamente 692 muestras para antígeno de galactomanano en un total de 26 ensayos, todas ellas validadas.

**CONCLUSIONES:**

- La automatización de la detección de galactomanano mediante el sistema Evolis Twin plus presenta mayor eficacia respecto al procesamiento manual y mayor fiabilidad en los resultados.

- Dicha eficacia puede relacionarse con la mayor precisión en el pipeteo, la menor manipulación y el menor riesgo de contaminación ambiental de las muestras.

- Si bien no acorta el tiempo de obtención de los resultados si facilita el trabajo en el laboratorio al reducir el tiempo de trabajo del personal técnico.

**ÍNDICE DE CONTAMINACIÓN DE LOS HEMOCULTIVOS RECOGIDOS EN EL SERVICIO DE URGENCIAS 2008-2010**

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* MARIA ELVA GONZALEZ GONZALEZ, XIOMARA MARIA CONCEJO IZQUIERDO, ENRIQUE CALVO BLANCO, ROSA MARIA GARCIA CAMAZANO

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA

*Correo electrónico del primer firmante:* elvag90@hotmail.com

**Introducción:**

El hemocultivo o cultivo de sangre es una prueba microbiológica que se realiza ante la sospecha clínica de bacteriemia. La recogida de los mismos requiere de una rigurosa técnica de asepsia para evitar la contaminación con los microorganismos que colonizan la piel. Un indicador de calidad de la recogida de hemocultivos es la tasa de contaminación, que no debe sobrepasar el 2-3%.

**Objetivo:**

El objetivo de este estudio ha sido determinar la tasa de contaminación de los hemocultivos remitidos desde el Servicio de Urgencias durante los años 2008, 2009 y 2010.

**MATERIAL MÉTODOS**

En nuestro hospital, los hemocultivos se procesan mediante el sistema automatizado Bactec 9240. Según las recomendaciones establecidas por el Servicio de Microbiología, a cada paciente se le recogen como mínimo, dos muestras de sangre (10ml en adultos y 5ml en niños), separadas 20 minutos y obtenidas de venopunciones diferentes. La extracción de la sangre nunca debe realizarse a través de catéter salvo que se sospeche bacteriemia relacionada con el catéter. Los frascos de hemocultivo una vez inoculados se dejan a temperatura ambiente, hasta su procesamiento. Las botellas se incuban durante 7 días antes de descartarlas como negativas.

Se revisaron los aislamientos de los hemocultivos de los tres últimos años remitidos desde el Servicio de Urgencias. Se consideraron contaminantes los microorganismos que forman parte de la piel como *Stafilococos* coagulasa negativos, *Micrococcus* spp, *Corynebacterium* spp, *Propionibacterium* spp, *Bacillus* spp y *Streptococcus* del grupo viridans.

La presencia de *S. epidermidis* en un solo hemocultivo se consideró también contaminante. La contaminación se presupone que se establece durante la toma de la muestra, ya que con los sistemas de hemocultivos automatizados, la probabilidad de contaminación en el laboratorio durante su procesamiento es mínima.

**RESULTADOS:**

Durante el año 2008 se recibieron 605 hemocultivos, de los cuales 151 (4,9%) fueron positivos y 454 (75,1%) negativos. Del total, 55 (9,09%) fueron muestras contaminadas. En 2009 de 558 hemocultivos recibidos, 139 (24,9%) fueron positivos, 419 negativos (75,1%) y 46 (8,24%) contaminados. De los 881 hemocultivos procesados en 2010, 59 (6,69%) correspondieron a muestras contaminadas, 194 (22%) positivas y 687 (78%) negativas.

	2008	2009	2010
TOTAL	605	558	881
NEGATIVOS	454	419	687
POSITIVOS	151	139	194
CONTAMINADOS	55 (9,09%)	46 (8,24%)	59 (6,69%)

**CONCLUSIONES:**

A lo largo de los 3 últimos años el porcentaje de contaminación de los hemocultivos remitidos desde el Servicio de Urgencias ha disminuido de un 9,09% a un 6,69%.

A pesar de ello todavía está muy alejado del porcentaje (2-3%) recomendado

Es preciso extremar las normas de asepsia en la recogida de los hemocultivos para reducir dichas contaminaciones

**ANÁLISIS DE UN MÉTODO DE CRIBADO DE ORINAS PARA UROCULTIVO**

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* García Peña, Pilar; Gómez-Garcés, José Luis; Gil, Yolanda; Burillo Almudena

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario de Móstoles

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* lagar43@gmail.com

**Introducción:**

El diagnóstico de las infecciones del tracto urinario requiere la realización sistemática de urocultivos, un alto porcentaje de los cuales son negativos y representan una carga importante en el trabajo diario de los laboratorios de Microbiología Clínica.

La selección de aquellas potencialmente significativas de infección urinaria evitaría la siembra indiscriminada con la consiguiente optimización de recursos.

**Objetivos:**

El objetivo ha sido evaluar el equipo SYSMEX UF1000i (Roche Diagnostics) como medio de cribado para seleccionar qué orinas sembrar de entre las recibidas para urocultivo.

**Material y métodos:**

Un total de 965 orinas se procesaron de forma simultánea mediante cultivo estándar y a través del equipo SYSMEX UF1000i. Se consideraron positivas aquellas cuyo recuento por la técnica habitual era superior a 1000 ufc/ml. Se elaboraron curvas ROC para determinar los mejores puntos de corte en el recuento de bacterias por  $\mu$ l. en relación con los resultados de los urocultivos.

**RESULTADOS:**

La prevalencia de infección urinaria fue del 26,4%. El punto de corte más idóneo, utilizando las curvas ROC, teniendo en cuenta los valores de sensibilidad, especificidad, VPP y VPN, fue el de 28 bacterias/ $\mu$ l

**CONCLUSIONES:**

Empleando el punto de corte de 28 bacterias/ $\mu$ l. la sensibilidad del sistema SYSMEX UF1000i fue del 94 %, el VPP del 95,5%, con solo un 4,5% de falsos negativos con respecto al urocultivo convencional.

Con este umbral para el sistema automático se evitaría la siembra del 39,4% de las orinas recibidas.

Puntos de corte más altos harían descender el número de muestras que se sembrarían, a costa de disminuir la sensibilidad y el número de falsos positivos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 079

## PREVALENCIA DE VIRUS GASTROINTESTINALES EN LA POBLACION PEDIATRICA

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Inmaculada Orellana Morales, Nuria Crespillo Pinto, Dolores Lucia Lopez Platero.

*Centro de trabajo:* Hospital General Básico de la Axarquía.

*Provincia:* Málaga

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

### Introducción:

Adenovirus y rotavirus son dos de los virus gastrointestinales que mas presencia tienen en las consultas pediátricas. Se transmiten por contacto feco-oral, siendo más prevalentes en época invernal. Los principales síntomas son diarrea y vómitos, aunque también puede ir acompañado de dolor de cabeza, fiebre, dolor de estómago, lesiones oculares y ginecourinarias.

### Objetivo:

Conocer la prevalencia de virus gastrointestinales, rotavirus y adenovirus, en la población pediátrica atendida en el Hospital Comarcal de la Axarquía durante el año 2010.

### Material y método:

Estudio prospectivo durante el año 2010. A todas las muestras de heces de niños menores de cinco años, recibidas en nuestro laboratorio procedente tanto de pacientes hospitalizados como de centros de Atención primaria, se les realizó análisis para la detección de rotavirus y adenovirus. Se estudiaron variables como edad, sexo y procedencia. La detección se realizó mediante test inmunocromatográfico (CerTest®)

### RESULTADOS:

Se procesaron un total de 459 muestras durante el periodo de estudio, siendo positivas 51 casos (11%) de los cuales 253 eran niños y 206 niñas, siendo positivos 24 y 26 casos respectivamente. Hubo 8 casos de ambos virus positivos a la vez, siendo 4 muestras de bebes. La distribución por edades fue la siguiente: 134 casos eran <1 año y de ellos 27 positivos (20%). 144 de 1 año, siendo solo 6 positivos (4%). 76 niños tenían 2 años, y hubo 11 positivos (14%). 22 eran de 3 años y 4 positivos (9%). 23 niños de 5 años y de ellos 3 positivos (13%) y por ultimo 16 pruebas correspondían a niños mayores de 5 años, de los cuales 3 positivos (18%). Según la procedencia, 382 muestras venían de Centros de Salud, y de ellos un 4% positivos, 13 procedían de Consulta Hospitalaria (15%), 10 de urgencias (10%) y 54 niños prevenían de hospitalización con un 35% de casos positivos. Si lo analizamos por meses del año, hubo 222 casos en los 6 meses más calido (Abril-Septiembre) con 20 muestras positivas; y en los 6 meses restantes invernales hubo 39 casos positivos.

### Conclusión:

El rotavirus es más prevalente que el adenovirus.

Los más afectados son los niños menores de un año aunque destaca la elevada prevalencia en niños mayores de 5 años

En épocas invernales hay el doble de casos que en verano.

El sexo no es un factor relevante en este estudio.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 085

## SEROLOGÍA EN LA REACTIVACIÓN DEL EPSTEIN-BARR

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Adoración Soler Fernández, Esther Messeguer García, David Antillano Martínez

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona.

*Correo electrónico del primer firmante:* adsoler17@hotmail.es

### Introducción:

La mononucleosis infecciosa está producida por el virus de Epstein-Barr, afecta a la primera infancia y sobre todo a la adolescencia. Infecta y permanece en estado de latencia en más del 90% de la población adulta. Dentro de la familia de los Herpes es el principal agente oncogénico, su reactivación está asociada al linfoma de Burkitt y carcinoma nasofaríngeo. Su diagnóstico es principalmente serológico.

Nuestro objetivo es valorar una técnica diagnóstica para la detección de anticuerpos (Ac) IgG e IgM frente a diferentes antígenos (Ag) del virus.

### MATERIAL Y METODOS:

Se han seleccionado 15 muestras de nuestra seroteca con diferentes resultados para Ac heterófilos

(Biokit SA ã µSpain) y Ac IgG e IgM por ELISA (DIASORIN SA ã µSpain). La técnica estudiada es un inmunoblot (EUROIMMUN LÜBECK ã µAlemania) que nos permite detectar:

a-dos proteínas de la cápside del virus VCAg125 y VCAg19.

b- dos proteínas nucleares EBNA 1 y p22 c- antígeno precoz de expresión difusa EA-D.

### RESULTADOS:

De los 15 sueros estudiados, dos han sido negativos para las tres pruebas (heterófilos, VCAIgG e IgM) y para el inmunoblot. Hemos analizado tres muestras que se han catalogado como infecciones actuales con VCAIgG negativa e IgM positiva, heterófilos positivos, EBNA 1 y EA-D negativas. En seis muestras clasificadas como latentes por inmunoblot los resultados han sido muy variados, lógicamente dependiendo del momento post-infección en que se han efectuado las determinaciones; pero en todos los casos los Ac anti-EBNA son positivos y los anti-EA-D son negativos. Se han detectado cuatro casos de reactivación cuyo esquema de anticuerpos es parecido al anterior, pero en este caso todos tenían en común la presencia de Ac anti-EA-D positivos.

### CONCLUSIONES:

1. Técnica de fácil ejecución, no requiere instalaciones especiales.

2. Podemos fijar el momento evolutivo de la enfermedad.

3. Posibilidad como método de referencia para detectar reactivaciones, ya sea en pacientes inmunodeprimidos o en pacientes oncológicos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 088

## CARACTERISTICAS EPIDEMIOLOGICAS DE LOS PACIENTES VIH DE NUEVO DIAGNOSTICO ATENDIDOS EN LA CONSULTA DE ETS DEL HOSPITAL DE BASURTO

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Asunción Santamaría, Valen Esteban, Jose A. Álava, Guillermo Ezpeleta y Ramón Cisterna

*Centro de trabajo:* Hospital de Basurto

*Provincia:* Vizcaya

*Correo electrónico del primer firmante:* MASUNCION.SANTAMARIACANO@osakidetza.net

### Introducción:

En la infección por VIH se postula que la prevención es la principal herramienta existente para el control de la epidemia. En los últimos años la infección por VIH se ha convertido en una enfermedad crónica debido a los nuevos tratamientos antirretrovirales de alta eficacia disponibles en la actualidad. Este hecho ha provocado que la percepción de la enfermedad haya variado en la sociedad y así la prevención de la infección por VIH mediante el uso adecuado del preservativo y la adecuada educación sanitaria entre otras medidas sea inadecuada en la actualidad.

### Objetivo:

Describir la frecuencia y las características de las personas que se diagnosticaron de infección por VIH en la Consulta de ETS del Hospital de Basurto entre los años 2002 y 2010.

### Métodos:

Se trata de un estudio descriptivo realizado entre los pacientes que se realizaron de forma voluntaria la prueba de VIH durante el periodo de estudio (2002-2010) por diferentes motivos y cuyo diagnóstico se confirmó posteriormente mediante la detección de anticuerpos VIH y posterior realización de la técnica de Western-Blot en el suero procedente de una segunda extracción. Se recogió en un cuestionario estandarizado variables sociodemográficas, existencia de pruebas previas, antecedentes de uso de drogas por vía parenteral (ADVP), orientación sexual, además de información clínica y de laboratorio. El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo con el programa SPSS PAWS Statistics versión 18. Las variables cuantitativas se describen mediante frecuencia y el porcentaje y las cuantitativas mediante media y desviación estándar (DE) o la mediana y los percentiles 25 y 75 (P25-P75). Para la comparación de medias se empleó el test de la t de Student y para la comparación de proporciones el test de la  $\chi^2$ .

### RESULTADOS:

Durante el periodo de estudio se recogieron 51 nuevos diagnósticos de infección por VIH. La distribución de casos por año fue heterogénea oscilando entre un solo caso en el año 2005a 16 en el año 2009. Del total de nuevos diagnósticos la proporción de hombres (52,9%) fue mayor que la de mujeres (47,1%). La infección fue más prevalente entre 25 y 35 años (41,2%) y en pacientes de nacionalidad española (45,1%). Respecto a la procedencia de los demás casos analizados un 17,6% son de origen africano, un 27,5% de origen sudamericano y el 3,9% europeo. Según el mecanismo de transmisión de la infección en un 5,9% de casos fue por consumo de drogas por vía parenteral y el resto vía sexual. De total de pacientes infectados vía sexual el 61,7% mantuvo contactos heterosexuales y en el 38,3 restante eran varones homosexuales. Se encontraron diferencias en el mecanismo de transmisión según la procedencia de los pacientes. Las relaciones homosexuales entre varones fueron más frecuentes en los españoles que en las otras procedencias consideradas aunque no existieron diferencias estadísticamente significativas al respecto. En referencia a las características clínicas de los pacientes estudiados, el 54,9% se les diagnosticó otra ETS asociada en el mismo episodio, siendo la más frecuente la sífilis (25,7%), seguida de la infección por C. trachomatis en el 11,9% de los casos. Además el 13,7% de los pacientes venían procedentes de su médico de atención primaria para realizar una confirmación del diagnóstico de infección por VIH.

## CONCLUSIONES:

Aunque los resultados obtenidos en este estudio reflejan la situación epidemiológica de las personas que acuden a la Consulta de ETS del Hospital de Basurto, no pueden considerarse representativos de la población general. No obstante si remarca la importancia del diagnóstico temprano de las ETS ya que suponen un marcador de riesgo para padecer infección por VIH. El aumento del número de casos experimentado en los últimos años sugiere una relajación en las medidas de prevención disponibles. Es necesario reforzar la educación en este aspecto así como la inclusión de protocolos completos de cribado para las distintas ETS en aquellos pacientes con conductas sexuales de riesgo y en aquellos que han sido diagnosticados de infección por VIH de manera reciente.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 089

## DIAGNÓSTICO MOLECULAR Y CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DEL VIRUS RESPIRATORIO SINCITAL

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* YURENA GONZALEZ DIAZ, CARMEN NIEVES LORENZO TABARES, YAIZA DEL MAR GONZALEZ MARTIN, MARTA ELENA NODA MESA, ALBERTO TENORIO-ABREU

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO DE CANARIAS

*Provincia:* SANTA CRUZ DE TENERIFE

*Correo electrónico del primer firmante:* aneruy\_gd@hotmail.com

### Objetivos:

Diseño de una RT-PCR múltiple convencional para el diagnóstico del Virus Respiratorio Sincital (VRS) y descripción de su epidemiología en pacientes pediátricos.

### Material y métodos:

Se diseñaron dos sets de primers para el diagnóstico del VRS utilizando el programa informático Primer Express 3.0. El primero de ellos se diseñó con el fin de detectar el VRS de forma genérica sin diferenciar tipo, y el segundo se diseñó para la detección específica del VRS tipo A. Para el diseño de ambos sets de primers, se utilizó como patrón, secuencias conservadas del gen N de la nucleocápside disponibles en la base de datos GenBank. El tamaño del amplicón generado por los dos sets de primers que detecta VRS genérico y tipo A fue de 76 y 65 pb, respectivamente. Para la RT-PCR, se utilizó la Master Mix AgPath-ID One-Step RT-PCR Kit (Applied Biosystem, EEUU) y el termociclador 7500 fast (Applied Biosystem, EEUU), con el siguiente programa de temperaturas: 1x(50°C, 30'), 1x(95°C, 10'), 40x(95°C, 15'') y 1x(55°C, 30''). La lectura se obtuvo por electroforesis en gel de agarosa al 2%, de forma que en muestras que aparecieron con doble banda (76 y 65 pb) se consideró VRS tipo A, y en los que solo apareció una sola banda (76 pb) correspondiente al VRS genérico, se consideró tipo B por exclusión. La extracción de ácidos nucleicos se realizó mediante el extractor automático Maxwell® 16 System (Promega®, EEUU), a partir de 200 µl de muestra de aspirado nasal. La técnica fue capaz de reproducir resultados en 3 horas y media. La sensibilidad se determinó por el mínimo número de copias que fue capaz de detectar. La especificidad se determinó mediante controles externos cedidos por el servicio de microbiología del Hospital Clínico Universitario de Valladolid y controles internos procedentes de muestras positivas diagnosticadas por inmunocromatografía capilar (Binax Now® RSV).

### RESULTADOS:

El límite de detección para ambos sets de primers correspondió a la dilución de entre 1 a 10 copias/µl. En cuanto a la especificidad, se obtuvo concordancia 100% con un panel de 10 muestras problemas remitidas desde el Hospital Universitario de Valladolid (4 VRS tipo A, 2 VRS tipo B y 4 muestras negativas). En cuanto a epidemiología, se analizaron un total de 137 muestras desde noviembre de 2010 a enero de 2011, correspondientes a igual número de pacientes, con una proporción de mujeres/hombres de 62/75, y una media de edad de 0,87 años (DE=±1,24). Mediante PCR se detectaron 66 positivos (48%), de los que 62 (45%) también lo fueron por ICC. No se detectó ningún falso positivo mediante ICC.

### Conclusión

Los datos de sensibilidad, especificidad y rapidez de la PCR, apuntan a que dicha técnica puede ser considerada para su uso en la práctica clínica, aunque harían falta estudios más extensos que certifiquen los resultados. En relación a la epidemiología, el VRS afecta casi exclusivamente a menores de 2 años y con mayor frecuencia a los menores de 1 año. En cuanto al sexo no parece haber diferencias significativas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 096

## ESTUDIO DE LIQUIDOS BIOLÓGICOS: RELACION ENTRE INDICADORES DE INFECCIÓN BACTERIANA Y LA FRECUENCIA DE CULTIVOS POSITIVOS

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* García López M<sup>a</sup> Nieves, Jiménez Martín Remedios, García López M<sup>a</sup> Dolores, Carretero López Ana Isabel, Ibáñez Garrote Sonia

*Centro de trabajo:* Hospital General Básico de la Axarquía

*Provincia:* Málaga

*Correo electrónico del primer firmante:* info@balconesdebentomiz.com

## Introducción:

Bajo el término de líquidos biológicos podemos incluir a todas las secreciones o fluidos corporales, fisiológicos o patológicos, procedentes del organismo, tales como: Líquido Cefalorraquídeo, Líquido Pleural, Líquido Sinovial, Líquido Pericárdico y Líquido Ascítico. Se consideran de mayor importancia clínica, por la gravedad y prontitud en el diagnóstico de una infección microbiana, el líquido cefalorraquídeo (LCR).

## Objetivo:

El presente estudio pretende relacionar varios parámetros rutinarios del laboratorio como indicadores clásicos de infección bacteriana en líquidos biológicos, con los casos de cultivos positivos confirmados por el Servicio de Microbiología de la UGC del Laboratorio.

## Material y método:

Se realiza un estudio retrospectivo de un año, evaluando 149 muestras totales de líquidos biológicos pertenecientes a pacientes atendidos en el Servicio de Urgencias y en las Consultas Especializadas del Hospital General Básico de la Axarquía (Vélez-Málaga).

Las muestras recepcionadas en el laboratorio se procesaron siguiendo el protocolo que a continuación detallamos:

Del tubo original (tapón rosca) alicuotamos una parte de la muestra recibida y centrifugamos a 3000 rpm durante 5 minutos, del sobrenadante obtenido se realiza el estudio bioquímico, a través del método fotométrico que utiliza el equipo Cobas 600 de Roche. Con el pellet se realizará la tinción del Panóptico rápido (para recuento celular) y la tinción de Gram.

Tubo estéril que se centrifuga a 3000 rpm, durante 5 minutos, y el pellet se descarga y extiende en placas para el cultivo microbiológico, en los medios adecuados para cada líquido biológico procesado, y el sobrenadante lo decantamos en caldo Tioglicolato de enriquecimiento.

## RESULTADOS:

El laboratorio procesó 149 muestras de líquidos biológicos de las cuales el 36,2% correspondía a Líquido Cefalorraquídeo y Pleural respectivamente. El 18,1% a Líquido Ascítico, Sinovial el 8% y Pericárdico el 1,3%.

El estudio pretendía evaluar la relación entre los indicadores rutinarios de infección bacteriana con el cultivo microbiológico de las muestras. Los resultados obtenidos nos muestra que el 17,4% de los líquidos biológicos presentan indicadores positivos de infección bacteriana y de éstos, muestran un resultado positivo en el cultivo microbiológico el 11,5% de los casos estudiados, resultando el resto negativo.

## Discusión:

Por tanto, indicamos por un lado la importancia en la orientación clínica que presentan los indicadores de infección bacteriana para una respuesta urgente en el diagnóstico y la prescripción del tratamiento antibiótico. Por otro lado profundizar en la investigación y la utilización de nuevas técnicas complementarias que mejoren el rendimiento en la identificación de un agente causa.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 100

## RENTABILIDAD DIAGNOSTICA DE LAS PRUEBAS RÁPIDAS PARA VIRUS RESPIRATORIOS SINCITAL Y VIRUS INFLUENZA A Y B

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* María Castillo Lopez, Rosario Figueroba García, Luisa Rodríguez Escribano, Juana Moral Moral, Joaquina Viso Rodríguez, M<sup>a</sup> Francisca Muñoz Marín, Purificación Cantudo Muñoz, M<sup>a</sup> Catalina Balbín Arana.

*Centro de trabajo:* Laboratorio del Hospital Comarcal S. Agustín de Linares (Jaén) Sección de Microbiología

*Correo electrónico del primer firmante:* (mariacasti1963@hotmail.com)

## Introducción:

El VRS y el Influenza destacan por su capacidad para causar infecciones respiratorias graves en niños pequeños, son virus que comparten estacionalidad y que provocan un incremento en las consultas en el hospital durante los periodos otoño e invierno. En Pediatría originan numerosos ingresos por bronquiolitis y neumonías.



En hospitales donde no se dispone de otras técnicas (cultivos virales ni pruebas moleculares) para el diagnóstico viral, son de innegable utilidad las pruebas de detección de antígeno. Estas pruebas, además, presentan la ventaja de ser rápidas, disponiendo del resultado entre 15-20 minutos, con la mínima manipulación de la muestra, mostrando su máxima sensibilidad en muestras de origen pediátrico.

Un resultado rápido tiene una utilidad muy valiosa, y ayuda al clínico en sus decisiones. Hemos querido valorar la rentabilidad diagnóstica de las pruebas de detección de antígeno para VRS y virus Influenza en nuestra sección.



## Material y método:

Se ha realizado estudio retrospectivo de muestras en la sección de Microbiología aspirados nasofaríngeos (recipiente estéril, con tapón de rosca), enviados para estudio de antígeno del virus respiratorio sincitial e Influenza (A o B), durante la temporada 2009- 2010 y la actual temporada hasta el 11 de Febrero 2011.



Técnica: ensayo inmucromatográfico inVtro (Binax Now: invernass medical, the Hague the Netherlands) para la detección cualitativa de antígenos.

Protocolo de trabajo: las muestras se trabajan en campana de seguridad biológica:

Primero se realiza la prueba de virus respiratorio sincitial (VRS).

Las que fueron positivas, se finaliza el estudio.

Las negativas para el virus respiratorio sincitial (VRS), se les realiza la prueba de Influenza.

4. En algunas muestras negativas para el virus respiratorio sincitial (VRS), no se realiza Influenza por no solicitarlo expresamente el pediatra

## RESULTADOS:

Se ha analizado un total de 310 aspirados nasofaríngeos:

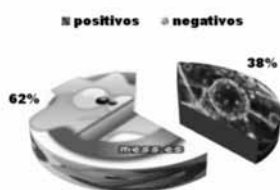
VRS: se realizaron 310 test.

1.-119 test dieron positivos

2.-191 test dieron negativos

3.-de los 310 test VRS, fueron positivos 38,5 %.

### TEST VRS



Influenza A y B: se realizaron 173 test.

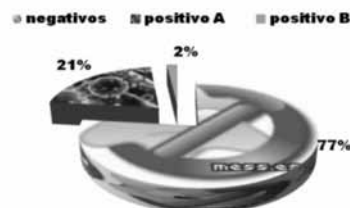
1.-40 test dieron positivos

2.-37 Influenza A (21%)

3.-3 Influenza B (2%)

2.-De los 173 test realizados, fueron positivos 23 %.

### TEST INFLUENZA A & B



Del total de muestras se dio un diagnóstico en el 51% de los casos.

## Conclusión:

se ha llegado a dar un diagnóstico en más de la mitad de las muestras recibidas. Estas técnicas, aunque de elevado coste, por su rapidez, fácil realización y lectura, aportan una información muy útil para el manejo del paciente pediátrico. Una identificación rápida ayuda al clínico en la toma de decisiones y puede reducir el uso de otras pruebas complementarias y consumo de antibióticos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 101

## EVALUACIÓN DE UNA TÉCNICA DE WB IgM EN EL DIAGNÓSTICO DE LA SIFILIS ACTIVA

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: PEREZ PINAR, CARMEN; QUIRANTES ALONSO, FELICIDAD; MERIDA DEL CAÑO, MARIA DOLORES

Centro de trabajo: HOSPITAL CLINICO UNIVERSITARIO

Provincia: GRANADA

Correo electrónico del primer firmante: yomellamocarmen@gmail.com

## Introducción:

El diagnóstico clásico de la sífilis se ha llevado a cabo mediante pruebas inespecíficas que detectan cardiolipina e indican la actividad de la enfermedad, y pruebas específicas para antígenos de *Treponema pallidum* que indican contacto y proporcionan especificidad.

## Objetivo:

Evaluar el método EUROLINE WB que detecta anticuerpos treponémicos y no treponémicos en una sola determinación.

## Material y métodos:

Se evaluaron 8 sueros positivos para sífilis por QLIA IgG+IgM de DiaSorin, todos confirmados mediante FTA-ABS (Euroimmun). 5 de ellos fueron positivos para RPR, y 3 negativos para este test. Todos ellos se testaron mediante la técnica EUROLINE WB, que permite detectar por separado IgG e IgM para las proteínas específicas de *Treponema pallidum* TpN47, tpmA, TpN17 y TpN15 y para tres concentraciones distintas de cardiolipina. Se usaron como control 8 sueros de pacientes sanos.

## RESULTADOS:

En los 16 casos hubo una correlación total entre los resultados para QLIA, FTA-abs e IgG por WB, siendo positivos para todos los confirmados por FTA.

	QLIA Positivo	QLIA Negativo
WB IgG Positivo	8	0
WB IgG Negativo	0	8

En el caso de la IgM, solo fue positiva en 4 casos de los 16 confirmados por FTA

	QLIA Positivo	QLIA Negativo
WB IgM Positivo	2	0
WB IgM Negativo	6	8

Para las bandas de cardiolipina se detectó una correlación total entre la aparición de estas y los casos con RPR positivo, siendo negativos para estas bandas los casos negativos para RPR.

## CONCLUSIONES:

La técnica EUROLINE WB presenta una buena correlación con las técnicas tradicionales en cuanto a la positividad para IgG (contacto) y la detección de cardiolipinas (actividad). No así en la detección de IgM, cuya utilidad no está suficientemente establecida en el diagnóstico de la sífilis. En un laboratorio como el nuestro, que procesa unas 40-50 muestras de sífilis diarias consideramos más adecuada la combinación de una técnica de cribado (QLIA) totalmente automática y la realización de RPR solo en aquellos casos en que esta sea positiva, con una posterior confirmación mediante FTA, que la técnica EUROLINE WB de realización más compleja y que no se puede usar por lo tanto como cribado. Además esta técnica no permite la cuantificación de las pruebas no treponémicas, por lo que no puede usarse en la monitorización del tratamiento. La técnica podría tener su utilidad en aquellos casos donde interesara obtener un resultado aislado para IgM, como en el caso de los recién nacidos de madres con serología positiva.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 103

## DETECCIÓN DEL MICROFILARIAS. TÉCNICA DE KNOTT

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: ENCARNACIÓN PRIETO DEL REY, MARIA ELVA GONZALEZ GONZALEZ, XIOMARA MARIA CONCEJO IZQUIERDO, ENRIQUE CALVO BLANCO

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA

Correo electrónico del primer firmante: elvag90@hotmail.com

## Introducción:

Las filarias son nematodos (gusanos redondos) que se transmiten por la picadura de artrópodos esencialmente moscas y mosquitos y que producen en el hombre infecciones crónicas con gran morbilidad como linfangitis y ceguera.

El gusano adulto llamado filaria se localiza en nódulos de la piel, o en vasos linfáticos, mientras que las larvas denominadas microfilarias migran durante meses por la piel y por la sangre. Teniendo en cuenta la localización de las filarias, el diagnóstico rara vez se establece mediante el estudio de las formas adultas. En la mayoría de las ocasiones el diagnóstico se realiza visualizando e identificando las microfilarias en piel y en sangre periférica.

En nuestra Área de salud, el estudio de filariasis se realiza principalmente en pacientes inmigrantes que presentan eosinofilia, en especial Subsaharianos procedentes de zonas de alta endemicidad. Para su diagnóstico utilizamos el método de concentración de la sangre mediante centrifugación denominada técnica de Knott.

## Objetivo:

Determinar la prevalencia y la etiología de las filariasis en pacientes inmigrantes con eosinofilia.

## MATERIAL Y MÉTODO

El estudio se efectuó durante 18 meses, realizando a todas las muestras detección de microfilaremia mediante la T. de Knott:

Muestra:

- Sangre con anticoagulante (EDTA, heparina, citrato sódico). La hora de la extracción se realiza según la periodicidad de la filaria que se sospeche (diurna o nocturna)

#### Técnica:

- se mezcla 1 ml de sangre con 10 ml de formalina al 2%
- se centrifuga a 1500 rpm durante 5 minutos
- se decanta y se examina el sedimento (directamente o con lugol a 10X y 40X).
- \* A las muestras positivas se les realiza posteriormente una tinción de Giemsa para identificar la especie de microfilaria

#### RESULTADOS:

Durante año y medio se enviaron 124 muestras de sangre de pacientes con sospecha de filariasis (80% Subsaharianos, 10% Saharauis y 10% Sudamericanos) En 105 (84,7%) no se demostró la presencia de microfilarias en sangre y en 19 (15,3%) se observaron microfilarias. De los pacientes positivos 17 presentaron parasitación única por *Mansonella pertans* y dos pacientes mostraron parasitación mixta por *Loa loa* y *Mansonella pertans*. En la visión directa, las microfilarias aparecen como gusanos redondos de un tamaño que oscila de 200-300 µm según la especie, con un espacio cefálico y una cola estrecha. La tinción de Giemsa permite estudiar las características morfológicas que ayudan a identificar la especie: tamaño, morfología, presencia o ausencia de vaina, características del extremo cefálico y la presencia de núcleos en el extremo caudal.

#### CONCLUSIONES:

1.-La inmigración incorpora a nuestro entorno parasitosis propias de otras latitudes que obliga a conocerlas y diagnosticarlas 2.- La técnica de Knott es un método rápido, sencillo y fácil de realizar que permite diagnosticar las filariasis que cursan con microfilaremia. 3.- Según nuestros resultados, en los inmigrantes especialmente los procedentes del África subsahariana predomina la parasitación por *Loa loa* y *Mansonella pertans*

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 112

### ENFERMEDAD DE CHAGAS Y GESTACION

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: VALIÑO PRIETO, PILAR; GONZALEZ AGULLA, JOSEFA; GONZALEZ MAGADAN, MANUELA GONZALEZ DEL BLANCO, TERESA (FACULTATIVO)

Centro de trabajo: CHUVI (COMPLEXO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO DE VIGO)

Provincia: PONTEVEDRA

Correo electrónico del primer firmante: m.pilar.valino.prieto@sergas.es

#### Introducción:

Es una enfermedad infecciosa provocada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, que ha aumentado su presencia en España desde 2001. Las comunidades con mayor incidencia son Cataluña, Madrid, Murcia y Valencia. Las principales vías de transmisión son: Vectorial: a través de la picadura de triatomas hematófagos, que transmiten el parásito. Cuando defecan sobre la piel o las mucosas, al picar, transmiten el parásito en sus heces. Vía sanguínea: por transfusión de sangre y trasplante de órganos contaminados. Transmisión vertical: la tasa de transmisión es alrededor de 4-7 % en nuestro medio, alcanzando el 12% en algunos países de origen.

#### Objetivos:

Realizar el seguimiento del embarazo por la posible transmisión vertical. En la actualidad se estudia la posible inclusión de investigación de la enfermedad de Chagas en todas las gestantes asintomáticas provenientes de zonas endémicas.

#### Material y métodos:

Fase aguda: se realizarán métodos de estudio directos; búsqueda del parásito en sangre. Examen microscópico directo de sangre fresca. Fase crónica: se realizarán métodos de estudio indirectos; búsqueda de anticuerpos en sangre. Las técnicas más utilizadas en nuestro país son: - IFI (Inmunofluorescencia indirecta) - HAI (hemaglutinación indirecta) - ELISA (Inmunoabsorción enzimática) - INMUNOCROMATOGRAFIA: con alto grado de sensibilidad especificidad.

#### RESULTADOS:

En nuestro Hospital se ha comenzado desde el 2010 a realizar la prueba de forma sistemática por la técnica inmunocromatografía (Chagas Ab RAPID) de ESTANDAR DIAGNOSTICS, según instrucciones del fabricante a mujeres en el 3er Trimestre de gestación que cumplieren requisitos de origen o estancias en zonas endémicas. Nº de muestras analizadas = 177 Nº de muestras positivas = 3

#### CONCLUSIONES:

El porcentaje de positividad entre las muestras estudiadas es 1,12% el cual a pesar de ser bajo frente al declarado por otras regiones de España, nos debe mantener alerta en el estudio de esta enfermedad.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 118

### UTILIDAD DE LAS TECNICAS DE ELISA EN EL DIAGNOSTICO DE LAS INFECCIONES RESPIRATORIAS VIRICAS

Trabajo de: Microbiología

Autor/a/s: Hita Rosino Carmen, Agudo López Emilia, Liñan Centeno Remedios.

Centro de trabajo: Hospital Universitario San Cecilio. Granada

Localidad: Código Postal: Provincia:

Correo electrónico del primer firmante: hitarosino@yahoo.es

#### INTRODUCCION:

Las infecciones respiratorias son muy frecuentes en nuestro medio, y el laboratorio de Microbiología desempeña un papel muy importante en el diagnóstico de las mismas. El diagnóstico directo de las producidas por virus y algunas bacterias como *Mycoplasma pneumoniae* es difícil, y por ello se recurre a técnicas inmunológicas que ponen de manifiesto la presencia de anticuerpos específicos en el suero.

#### Objetivos:

Valorar la utilidad de las técnicas inmunológicas de detección de anticuerpos específicos, en el diagnóstico de las infecciones producidas por los virus más frecuentes en nuestro medio, cuyo diagnóstico directo implica la utilización de cultivos celulares, y las producidas por *Mycoplasma pneumoniae* cuyo diagnóstico directo mediante cultivo es difícil.

#### MATERIAL Y METODOS:

Durante el año 2010 se recibieron en la sección de Serología un total de 2.091 peticiones, con objeto de diagnosticar las infecciones producidas por *Mycoplasma pneumoniae*, Adenovirus, Virus respiratorio sincitial, Influenzavirus A y B, y Parainfluenzavirus. La técnica empleada ha sido un ensayo inmunoquímico indirecto (ELISA) en microplaca (SERION), que permite detectar en suero la presencia de anticuerpos de tipo IgA e IgG. En *Mycoplasma pneumoniae* se determinó también la presencia de IgM. La presencia en el suero de IgA o de IgM se asocia a infección actual, y la presencia de IgG en ausencia de IgA o IgM, se asocia a infección pasada y resuelta. Se realizaron un total de 5.142 determinaciones.

#### RESULTADOS:

Los resultados obtenidos se reflejan en la siguiente tabla

Determinación	Nº Petición	Positivos	
		Nº	%
Mycoplasma pneumoniae IgM	482	27	5.60
Mycoplasma pneumoniae IgA	482	72	14.93
Mycoplasma pneumoniae IgG	482	107	22.19
Adenovirus IgA	540	33	6.11
Adenovirus IgG	540	24	4.44
V. Respiratorio sincitial IgA	206	19	9.22
V. Respiratorio sincitial IgG	206	7	3.39
Influenzavirus A IgA	312	60	19.23
Influenzavirus A IgG	312	25	8.01
Influenzavirus B IgA	312	39	12.50
Influenzavirus B IgG	312	28	8.97
Parainfluenzavirus 1 IgG	239	24	10.04
Parainfluenzavirus 2 IgG	239	2	0.83
Parainfluenzavirus 3 IgG	239	2	0.83
Parainfluenzavirus IgA	239	21	8.78
<b>TOTAL</b>	<b>5142</b>	<b>466</b>	<b>9.06</b>

Si analizamos estos resultados, observamos que el microorganismo que con más frecuencia produce infecciones agudas es *Mycoplasma pneumoniae* ya que en 80 pacientes de los 482 en los que se les solicita dicha analítica se detecta la presencia de IgM o IgA o ambas. Le sigue Influenzavirus A, responsable de la gripe, detectándose anticuerpos de tipo IgA en el 19.23% de los pacientes a los que les solicita dicha analítica. En la siguiente tabla se reflejan las infecciones agudas diagnosticadas en los diferentes meses del año 2010

	En	Feb.	Mar	Abr.	My	Jun.	Jul.	Ag	Sep.	Oct.	Nov.	Dic.	Total
IgA/IgM	16	20	27	9	23	24	22	30	18	17	39	26	271

Como podemos observar el mayor número de casos se diagnostican en el mes de Noviembre, y el menor en el mes de Abril

#### CONCLUSIONES:

Las técnicas de ensayo inmunoquímico permiten diagnosticar las infecciones agudas producidas por *Mycoplasma pneumoniae* y por virus productores de infecciones respiratorias. Su automatización permite la implantación en la rutina asistencial en los laboratorios de Microbiología.

**EVALUACIÓN DEL MÉTODO GENEXPERT PARA DETECCIÓN DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN HEMOCULTIVOS**

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* MARIA DE LOS ANGELES GARCIA SAAVEDRA y MARIA TERESA RODRÍGUEZ CALVIÑO

*Centro de trabajo:* Servicio de Microbiología, HOSPITAL ARQUITECTO MARCIDE-FERROL (A CORUÑA)

*Correo electrónico del primer firmante:* maria.angeles.garcia.saaavedra@sergas.es

**Introducción:**

La rápida determinación de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) sirve para pautar un correcto tratamiento antibiótico y controlar posibles brotes de infección nosocomial.

**Objetivos:**

Evaluar la eficacia del sistema de PCR a tiempo real GeneXpert en la detección de *S. aureus* y su resistencia a meticilina en muestras de hemocultivo positivas.

**Material y métodos:**

Realizamos un estudio retrospectivo de las muestras analizadas con la técnica MRSA-Blood en el Sistema GeneXpert-DX (IZASA) y el resultado se comparó con el obtenido en las mismas muestras procesadas de forma convencional.

**RESULTADOS:**

Se revisaron un total de 59 muestras, entre febrero de 2008 y febrero de 2011, comparando el resultado del GeneXpert con el resultado del cultivo y antibiograma.

En relación a la identificación bacteriana, se encontraron 28 muestras positivas para *S. aureus* por PCR, de las cuales en 27 se cultivó *S. aureus* y en una un estafilococo coagulasa negativo. En las 31 muestras restantes se obtuvo un resultado negativo para *S. aureus* en el cultivo y en el GeneXpert (sensibilidad 100%, especificidad 96%).

De las 27 muestras positivas para *S. aureus* por cultivo, en el GeneXpert no se detectó resistencia a la meticilina en ningún caso. En el cultivo se identificó una muestra resistente, no detectada por PCR (sensibilidad 100%, especificidad 96%).

**CONCLUSIONES:**

El sistema GeneXpert resulta un método sencillo y eficaz a la hora de detectar *S. aureus* en hemocultivos, a la vez que proporciona un adelanto importante en la información suministrada, permitiendo adecuar el tratamiento antibiótico entre 24-48 horas antes de los cultivos.

**PREVALENCIA DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA RESISTENTE A CARBAPENEMES EN EL HOSPITAL CLÍNICO SAN CECILIO DURANTE LOS AÑOS 2008-2009**

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Moreno Puertas M.I, Toro Barnes D, Sáez Melguizo M.F, Espigares Gallardo M.A

*Centro de trabajo:* Hospital Clínico San Cecilio

*Provincia:* Granada

*Correo electrónico del primer firmante:* mopuiza@yahoo.es

**Introducción:**

Los bacilos gramnegativos constituyen el grupo de microorganismos que más frecuentemente se relacionan con infecciones adquiridas en el hospital. A este problema sanitario se une la alta capacidad de estos microorganismos de desarrollar mecanismos de resistencia a la mayoría de los antimicrobianos utilizados en la práctica clínica. De entre estos bacilos gramnegativos, *Escherichia coli*, *P. aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* son algunos de los aislados con más frecuencia en el laboratorio de microbiología.

La resistencia a carbapenems es todavía un hecho poco común entre los aislamientos de enterobacterias. Sin embargo, este tipo de resistencias es mucho más frecuente en el caso de *P. aeruginosa*, constituyendo un importante problema sanitario al reducir de forma muy sensible las opciones terapéuticas en infecciones producidas por este microorganismo.

**Objetivos:**

Conocer el número y la distribución entre diferentes Servicios hospitalarios de las cepas de *P. aeruginosa* con algún mecanismo de resistencia a carbapenems aisladas en el Laboratorio de Microbiología de nuestro hospital entre los años 2008 y 2009.

**Material y métodos:**

Se han seleccionado un total de 1065 cepas de *P. aeruginosa* aisladas durante los años 2008 (488) y 2009 (577). A todos los aislamientos se les realizó el estudio de susceptibilidad antibiótica mediante el sistema de microdilución en caldo Wider (Dade Behring Microscan, West Sacramento, EE.UU), utilizando el panel que contiene los siguientes antimicrobianos: PTZ (piperacilina/tazobactam), CAZ (cefazidima), CPM (cefepima), AZT (aztreonam), IMP (imipenem), MER (meropenem), ERT (ertapenem), G (gentamicina), T (tobramicina), AMIKA (amikacina), CIP (ciprofloxacino), TMP-SXZ (Trimetropin-sulfametoxazol) y COL (colistina).

Todas las cepas con una CMI  $\geq 4$  ug/mL para imipenem y/o meropenem fueron consideradas compatibles fenotípicamente con algún mecanismo de resistencia a carbapenems.

**RESULTADOS:**

Los Servicios con mayor incidencia de aislamientos (acumulado 2008 y 2009) de *P. aeruginosa* fueron: UCI (132), neumología (127), cirugía vascular (79) y dermatología (49). Se aislaron un total de 97 y 84 cepas con algún fenotipo de resistencia que afectaba a carbapenems en los años 2008 y 2009, representando un porcentaje de resistencia de 19,8% y 14,5%, respectivamente. Los Servicios con mayor incidencia de *P. aeruginosa* resistente a carbapenems fueron neumología (14 y 20, respectivamente) y UCI (24 y 10, respectivamente).

**CONCLUSIONES:**

Los porcentajes de resistencia a carbapenems (17%) son similares a los obtenidos en la mayoría de países europeos.

El mayor porcentaje de resistencias de *P. aeruginosa* a carbapenems se encuentra en los Servicios con mayor presión antibiótica (neumología y UCI).

**ESTUDIO DE LA FRECUENCIA DE ANTICUERPOS HETEROFILOS IGM DE MONONUCLEOSIS INFECCIOSA EN LA POBLACION QUE ACUDE AL SERVICIO DE URGENCIAS DE BURGOS**

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Moreno Perez Maria Jose, Fernandez Campo Marianela, Ordas San Martin Carmen Teresa, Perez Mecerreyes Esperanza, Romero Ortega Trinidad.

*Centro de trabajo:* Hospital General Yague.Complejo Asistencial Universitario de Burgos.

*Provincia:* Burgos

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

**INTRODUCCION:**

La mononucleosis infecciosa es una infección aguda producida por el Virus Epstein-Barr. Se caracteriza por síntomas como: letargia, irritación de garganta, linfadenopatía, esplenomegalia, hepatitis e ictericia. La mononucleosis generalmente está ligada al virus de Epstein-Barr (EBV), pero también puede ser ocasionada por otros microorganismos como el citomegalovirus (CMV).

**Objetivo:**

Establecer el rango de edad con mayor incidencia de mononucleosis infecciosa aguda en la población de Burgos.

**MATERIAL Y METODOS:**

Se ha realizado una determinación cualitativa en un total de 210 individuos con edades comprendidas entre 0 y 70 años que acudieron al servicio de urgencias.

El método utilizado ha sido el monotest Clearview IM. El procedimiento de medida es una inmunocromatografía para la detección cualitativa de anticuerpos heterofílos de tipo IgM en muestra de plasma humano.

**RESULTADOS:**

Esta prueba se realizó en 210 pacientes en el año 2010 en el servicio urgencias del laboratorio de análisis clínicos del hospital General Yagüe de Burgos. Por género 108 hombres y 102 mujeres.

La descripción de la frecuencia por sexos: En hombres de edad comprendida entre 0 y 14 años es el 17% positivos y del 83% negativos; de 15 a 19 años el 56% es positivo y el 44% negativos y de 20 a 70 años el 47% positivos y el 53% negativos.

En mujeres de 0 a 14 años es del 33% positivo y del 77% negativo, entre 15 a 19 años el 75% son positivos y el 25% negativos, y finalmente de 20 a 70 años el 18% es positivo y el 82% es negativo.

**DISCUSIÓN:**

La frecuencia de los resultados positivos, es similar a los datos que recoge la documentación en la bibliografía de este método. Dado que la realización de la prueba depende de la valoración de otros parámetros como: fórmula leucocitaria (Linfocitos, Monocitos) y GPT, es importante conocer la edad del paciente, entendiendo que el rango con mayor incidencia de resultados positivos está entre 15 y 19 años en ambos sexos.

Un 30% de las peticiones procedían según los parámetros analizados.

**EVALUACIÓN DE LA SENSIBILIDAD DE UNA TÉCNICA DE FILTRACIÓN-CENTRIFUGACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN DE PARÁSITOS EN HECES**

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Calvo Leyva V, Espigares Gallardo M.A, Gines Rivas F, Sáez Melguizo M.F

*Centro de trabajo:* Hospital Clínico San Cecilio

*Provincia:* Granada

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

**Introducción:**

La visualización por microscopía sigue siendo la principal técnica de diagnóstico de parásitos en heces. La sensibilidad de la técnica y el tiempo de procesamiento son factores a

tener en cuenta a la hora de seleccionar una técnica, adquiriendo el tiempo de procesamiento una gran importancia en laboratorios con un elevado volumen de muestras. Por este motivo se ha valorado la sensibilidad de una técnica de filtración-centrifugación de heces (Bioparaprep-Mini) con un tiempo de procesamiento notablemente menor que la técnica de rutina instaurada en el laboratorio (Copropack).

#### Objetivos:

Comparar la sensibilidad de la técnica de filtración-concentración con SAF de parásitos en heces (Bioparaprep-Mini) con formalina 10%-triton X-100, BLK-Leti Diagnostics) respecto a la de Copropack (Soria Melguizo).

#### Material y métodos:

Se comparó, utilizando la técnica Bioparaprep-Mini, 87 muestras con petición de investigación de parásitos en heces de las cuales 56 resultaron positivas con diferentes grados de parasitismo y 31 fueron negativas mediante el método Copropack. El material para el desarrollo ambas técnicas consta de un tubo de toma de muestra con SAF, una unidad de filtración-concentración y de acetato de etilo para la creación del gradiente de densidad. La técnica Copropack, además, incorpora un hisopo seco y requiere de lugol y pipetas. Mientras que el kit Bioparaprep-Mini tan sólo requiere de un centrifugado de 1 minuto, con Copropack se necesitan 30 minutos de reposo después de la disgregación de la muestra y 10 minutos de posterior centrifugación. Las preparaciones fueron visualizadas en microscopio óptico con aumentos x10 y x40.

#### RESULTADOS:

Con ambas técnicas se obtuvieron 31 muestras negativas y 56 positivas, encontrándose tan sólo 2 muestras discrepantes. En la primera discrepancia, con Copropack se identificó la presencia en escaso número de Endolimax nana, mientras que la técnica Bioparaprep-Mini fue negativa. Por el contrario, la segunda discrepancia fue negativa para Copropack y positiva para Bioparaprep-Mini a Blastocystis hominis. La cantidad de parásitos en las muestras positivas no sufrió ninguna variación significativa al comparar las dos técnicas.

#### CONCLUSIONES:

No hubo diferencias significativas en la sensibilidad de ambas técnicas, encontrándose tan sólo una discrepancia positiva para cada una. La técnica Bioparaprep-Mini obtiene resultados satisfactorios, siendo mucho menor tanto el tiempo como la complejidad de procesamiento, lo que la hace especialmente útil en laboratorios con una alta carga de trabajo en investigación de parásitos en heces. Por último, cabe destacar la gran claridad de las preparaciones procesadas con Bioparaprep-Mini en muestras con abundante sedimento y la ausencia de artefactos presentes con la técnica Copropack en una de las muestras (granos de polen) que confirman la gran eficacia de la técnica en el proceso de filtración.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 130

#### APLICACIÓN DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS PARA LA IDENTIFICACIÓN ETIOLÓGICA DE BACTERIEMIA EN MUESTRA DIRECTA.

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Moreno Puertas MI, Sanchez Alvarez A, Perez Pinar C, Calvo Leiva V

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO SAN CECILIO

Provincia: GRANADA

Correo electrónico del primer firmante: mopuisa@yahoo.es

#### Introducción:

La aplicación de la espectrometría de masas MALDI-TOF (matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight) para la identificación bacteriana supone uno de los avances tecnológicos más importante actualmente en el laboratorio de Microbiología Clínica, permitiendo la identificación de microorganismo causante de infección casi de forma inmediata tanto en muestra directa (hemocultivos), como de crecimiento en medio de cultivo.

#### MÉTODO:

Se analizaron de forma paralela 83 hemocultivos positivos recogidos durante los meses de Julio-Septiembre, tanto desde el frasco directamente, como desde su posterior aislamiento en medio de cultivo. La identificación y antibiograma se realizaron según los protocolos de trabajo habituales del laboratorio (Wider, Vitek-2, API 20 Strep, API Coryne y API ANA). El equipo de espectrometría de masas utilizado fue un dispositivo MS MALDI-TOF Autoflex III (Bruker Daltonics), el cual posee un software que puntúa automáticamente de 0-3 en función de su fiabilidad, siendo considerados como no fiables aquellos aislamientos con puntuaciones inferiores a 1,5 los cuales fueron desechados. La correlación de resultados de los dos esquemas diagnósticos fue determinada estadísticamente por el coeficiente de correlación kappa, que establece una fortaleza de concordancia de resultados excelente cuando el índice es de 0.81-1, bueno si es entre 0.61-0.8, moderado si 0.41-0.6, ligero si 0.21-0.4, y malo si menor de 0.2.

#### RESULTADOS:

La distribución de la muestra estudiada fue la siguiente: 20.5% de bacilos gramnegativo (BGN), frente a un 79.5% de cocos grampositivos (CGP), de los cuales el 66.9% (46/66) fueron Staphylococcus coagulans negativo (SCN), 6 fueron S. aureus, 4 Enterococcus faecalis, 2 Streptococcus viridans y 1 St. pneumoniae. La concordancia global de resultados entre la identificación bacteriana de rutina y la identificación directa por tecnología MALDI fue del 90.9% en la especie y del 95.5% en el género en los gram positivos estudiados,

con un coeficiente kappa de correlación de 0.848. Respecto a los gram negativos, la correlación fue del 99.8% en especie, las cuales comprendían 10 Escherichia coli, 2 Acinetobacter lwoffii, 1 Enterobacter aerogenes, 3 Pseudomonas aeruginosa y 1 Ps. putida. Las identificaciones fallidas se dieron en un caso de Corynebacterium que fue identificada como S. petenkeri por espectrometría de masas, un caso de SCN (Rhotia mucilaginosa), y un caso de St. viridans (St. pneumoniae). En los BGN solo hubo una discordancia de resultado a nivel de especie, donde una P. putida (identificación por Wider) fue identificada como P. stutzeri por la tecnología MALDI.

#### Conclusión:

La identificación de aislamientos bacterianos clínicos mediante MS MALDI-TOF muestra una muy buena correlación respecto a la identificación realizada a través de la metodología convencional, por lo que sumado a la rapidez con la que se consiguen los resultados a través de esta tecnología podría considerarse como otra opción válida en la rutina del laboratorio

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 133

#### CAMBIOS EN LA DISTRIBUCIÓN DE LOS AISLADOS Y RESISTENCIAS EN MICOBACTERIAS DESDE 2005 HASTA LA ACTUALIDAD EN EL AREA SANITARIA DE OSUNA

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: González Fernández María del Carmen, Arias de Reina Ruiz Inmaculada Concepción, Bermúdez Pato María Victoria

Centro de trabajo: Hospital Nuestra Señora de la Merced

Provincia: Granada

Correo electrónico del primer firmante: maricarmengi@hotmail.com>

#### Introducción:

Actualmente, el tratamiento de elección recomendado, según el último documento consenso, sería HREZ2m/HR4m pues la tasa de resistencia a Isoniacida supera el 4% a nivel nacional. Consideramos altamente recomendable evaluar esta tasa de resistencia a nivel local para comprobar si este combo de antibióticos es el más adecuado para los pacientes del área pues de no ser así el tratamiento se podría simplificar. Además se hace imperativo la prontitud en la identificación a nivel de especie para determinar si se trata de una micobacteria del "complex tuberculoso" pues podría, en muchos casos, retirarse el tratamiento empírico al tratarse de una micobacteria saprofita.

#### Objetivos:

Evaluar la tasa de resistencia frente a los fármacos de primera línea en nuestra área de salud y determinar el porcentaje de aislados pertenecientes y no pertenecientes al "complex tuberculoso" durante el período comprendido entre el año 2005 hasta Agosto del 2010.

#### Material y métodos:

Se trabajaron 2684 peticiones con sospecha de tuberculosis a las que se le realizó una tinción de Ziehl-Neelsen con el fin de visualizar bacilos ácido-alcohol resistente, además se inocula muestra para cultivo en medio líquido Middlebrook. Las muestras con aislados positivos para micobacterias se enviaron al Centro Nacional de Referencia de Microbiología (Instituto de Salud Carlos III) y así completar el estudio y obtener la determinación a nivel de especie y su correspondiente antibiograma.

#### RESULTADOS:

Se describen 65 pacientes con tuberculosis desde el año 2005 hasta la actualidad, de éstos: 34/67 (50.75%) presentaron baciloscopia negativa y 33/67 (49.25%) obtuvieron una baciloscopia positiva. Hemos obtenido 46/67 (68.66%) aislados pertenecientes al "complex tuberculoso" y 21/67 (31.34%) pertenecientes al "complex no tuberculoso", destacando 6/21 (28.57%) aislados de M. gordonae, 5/21 (23.80%) correspondientes a M. lentiflavum, 3/21 (14.28%) de M. avium intracelulare, 2/21 (9.52%) de M. fortuitum y M. terrae y 1/21 (4.76%) de M. septicum, M. mageritense y M. peregrinum. El 69.57% de las baciloscopias del "complex tuberculoso" fueron positivas, mientras que del "no tuberculoso" fueron positivas el 9.52% (p<0.0001).

Para los fármacos de primera línea empleados vemos que para el "complex tuberculoso" versus "no tuberculoso"; la resistencia a isoniácida (H) sería 7/46 (15.21%) vs 21/21 (100%); rifampicina (R): 2/46 (4.34%) vs 15/21 (71.42%); estreptomycin (E): 1/46 (2.17%) vs 18/21 (85.71%); pirazinamida (P): 1/46 (2.17%) vs 18/21 (85.71%). De interés resaltar que según la distribución por año, los casos de resistencia a Isoniacida descritos corresponden a los años 2005-2006 y que a partir del año 2007 hasta la actualidad ha aparecido un caso; 1/26 (3.84%), además, también se han visto aumentados el número de aislados del "complex no tuberculoso" desde el 2008 hasta la actualidad; con un aumento del 22.24% hasta el 43.96%, aunque estas diferencias no son estadísticamente significativas (p>0.1023).

#### CONCLUSIONES:

El mayor número de baciloscopias positivas fueron para el grupo tuberculoso. Se ha visto un aumento en el número de aislados no tuberculosos a partir del año 2008. Los casos de resistencia a Isoniacida descritos en nuestra área corresponden a los años 2005/2006 (30%) y a partir del año 2007 la tasa de resistencia es del 3.84%.

## CONTROL DE CALIDAD PARA LA INTRODUCCIÓN DE UN NUEVO MEDIO DE CULTIVO EN EL LABORATORIO DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA: MEDIO GRANADA

*Trabajo de:* Microbiología

*Autor/a/s:* SAMPEDRO DE LA TORRE, INMACULADA CONCEPCIÓN; LIÉBANA MARTOS, M DEL CARMEN; BAUTISTA MARÍN, M FE; MIRANDA CASAS, CONSUELO; GARCÍA MARISCAL, M GRACIA; MARTINEZ MUÑOZ, PURIFICACIÓN.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES

*Servicio:* MICROBIOLOGÍA

*Localidad:* Código Postal: Provincia: GRANADA

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

### Introducción:

El medio Granada es un medio diferencial que se utiliza para la detección del *Streptococcus agalactiae* mediante la producción de un pigmento de color anaranjado característico en condiciones de anaerobiosis. En el laboratorio del servicio de Microbiología se elabora el medio Granada a partir de sus componentes. A partir de julio de 2010 se decide utilizar el medio Granada comercial siendo necesario comprobar su funcionamiento antes de introducirlo en el laboratorio.

### Objetivo:

Comparar el medio Granada comercial con el elaborado en el laboratorio para verificar su funcionalidad.

### Material y métodos:

Los lotes de medio Granada comerciales y los elaborados en el laboratorio se controlaron siguiendo las recomendaciones del Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI), M22-A3 y de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, (SEIMC), comprobando:

I) Características físicas: el color y el espesor de la capa adecuados y la no presencia de burbujas ni precipitados.

II) Esterilidad: Se incuban dos placas de cada lote a  $35 \pm 2^\circ \text{C}$  (temperatura de uso) durante 48 h y posteriormente 48 h a temperatura ambiente. Si en alguna de las placas hay crecimiento se repite el control utilizando un 5% del lote si este es menor de 100 placas y 10 placas si el lote a controlar supera las 100 placas. Si hay crecimiento importante en las dos placas se desecha el lote.

III) Funcionamiento: A partir de un cultivo de 18-24 h de la cepa control (*Streptococcus agalactiae* ATCC 12386) en agar sangre se realiza una suspensión en solución salina estéril de mínima turbidez visible. Se siembra de forma semicuantitativa con asa de un microlitro en estría los cuadrantes (A, B, C, D y E) de una placa de Granada y otra de agar sangre (placa control) y en el cuadrante A se coloca un cubreobjetos para lograr la anaerobiosis. Se incuban las placas a  $35 \pm 2^\circ \text{C}$  de 18 a 24 h.

IV) Lectura e interpretación de los resultados a) Propiedades nutritivas: el cuadrante hasta el que llega el crecimiento en la placa de Granada a controlar debe ser similar al obtenido en la placa de agar sangre. b) Propiedades diferenciales: debajo del cubreobjetos coloración naranja (pigmento producido por *Streptococcus agalactiae*) y en el resto del medio colonias tamaño mediano (de unos 2 milímetros). Si se cumplen estas especificaciones el medio se considera adecuado para su uso.

### RESULTADOS:

Desde julio de 2010 hasta enero de 2011 se procesaron para su comparación 20 lotes de Granada, 10 comerciales y 10 elaborados en el laboratorio. Todos los lotes de medios controlados, tanto los comerciales como los elaborados en el laboratorio, cumplieron con las características físicas requeridas, si bien el grosor de la capa del medio elaborado en el laboratorio era superior al que presentaba el medio comercial. En cuanto a la esterilidad, de los 10 lotes elaborados en el laboratorio uno de ellos presentó una colonia a las 18 h en una placa por lo que se incubaron 10 placas del lote que presentaron crecimiento a las 18 horas de forma que, según las normas establecidas en el laboratorio, el lote fue rechazado. En los lotes comerciales no se detectó crecimiento en ninguna placa por lo que todos ellos se consideraron válidos. En cuanto al funcionamiento: en todos los lotes de medio Granada elaborados en el laboratorio, la coloración naranja y el tamaño de las colonias fue mayor que los obtenidos en los distintos lotes de medio Granada comercial. En los lotes comerciales el crecimiento se detectó hasta el cuadrante C mientras que en la placa control el microorganismo crecía hasta el cuadrante E. En los lotes elaborados en el laboratorio el crecimiento del *Streptococcus agalactiae* llegó hasta el cuadrante D o E, igual que en la placa control.

### CONCLUSIONES:

a) El crecimiento de *Streptococcus agalactiae* y la producción de pigmento en los lotes elaborados en el laboratorio son superiores al de los lotes comerciales, aunque el resto de las características físicas eran semejantes excepto el grosor de la capa de medio.

b) Dado que no todos los laboratorios poseen los recursos para la elaboración de medios de cultivo, el Granada comercial puede considerarse como una alternativa adecuada para su uso en el laboratorio, siempre y cuando se realice un control de calidad antes de ponerlo en uso.

## GASTROENTERITIS POR CAMPYLOBACTER SPP. EN EL AREA SANITARIA DE LINARES (JAEN-NORTE)

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* BALBIN ARANEGA MARIA CATALINA, MARTINEZ PALACIOS GREGORIO, GALLARDO GODOY ANTONIA, RAMOS SANCHEZ BELEN, CASTILLO LOPEZ MARIA, VISO RODRIGUEZ JOAQUINA, AMORES ANTEQUERA CARMEN, CANTUDO MUÑOZ PURIFICACION.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL SAN AGUSTIN DE LINARES(JAEN).UNIDAD DE MICROBIOLOGIA

*Correo electrónico del primer firmante:* balbinmaria@live.com

### INTRODUCCION:

*Campylobacter* spp. Causa infecciones intestinales con diarrea, producida por invasión directa de la mucosa intestinal. El diagnóstico se hace por aislamiento del microorganismo en coprocultivo.

### Objetivos:

Conocer el número de aislamientos de *Campylobacter* durante el año 2010 en muestras de heces remitidas a nuestra unidad.

Comparar dichos aislamientos por épocas del año, edad, sexo, localización de los pacientes y sensibilidad a los antibióticos de las cepas aisladas.

### MATERIAL Y METODOS:

Los aislamientos del *Campylobacter* se obtuvieron mediante cultivo (de las heces) en el medio selectivo Campylosel (Biomérieux) incubado durante 48 horas a  $42^\circ \text{C}$  en atmósfera microaerófila. La identificación se realizó mediante test de Oxidasa, observación morfológica de características y test de Movilidad. Se realizó antibiograma en Muller-Hinton sangre por difusión (disco-placa) a los siguientes antibióticos: Eritromicina, Amoxicilina-Clavulánico y Ciprofloxacino.

### RESULTADOS:

Se obtuvieron un total de 70 aislamientos de *Campylobacter* spp.: 57 (82%) de muestras procedentes de Atención Primaria, 13 (18%) de hospitalización de los cuales: 10 (14%) de Pediatría, 3 (4%) de Medicina Interna. Por edades 42 (62%) en un primer grupo (0-3 años), 16 (23%) un segundo grupo (3-10 años), 6 (9%) tercer grupo (10-20 años) Y 4 (6%) cuarto grupo (>20 años). En los meses de invierno se aislaron 22(31%), en primavera 20(29%), en otoño 15(21%) y en verano 13 (19%). Por sexos el 60% fue en varones y el 40% en mujeres. Un 88% fueron sensibles a Eritromicina, un 86.5% sensibles a Amoxicilina-Clavulánico y un 12% a Ciprofloxacino.

### CONCLUSIONES:

El grupo más vulnerable es el primer grupo (0-3 años) 62%.

Por sexos la mayor incidencia se produce en varones 60%.

El verano es la época de menor número de aislamientos.

Eritromicina es el antibiótico que presenta mayor sensibilidad y Ciprofloxacino el de mayor número de resistencias.

## ESTUDIO DE GENOTIPOS DE VHC EN EL AREA SANITARIA DE TOLEDO

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* CRISTINA FUENTES GONZALEZ, ELVIRA VILLARRUBIA MARTIN VILLAMUELAS, Mª DE LOS ANGELES SANCHEZ BRIGIDANO, FRANCISCA OLIVES MANUEL DE VILLENA, NATALIA AYUSO LOPEZ, CESAR GOMEZ HERNANDO

*Centro de trabajo:* CHT " VIRGEN DE LA SALUD " TOLEDO : MICROBIOLOGIA

*Correo electrónico del primer firmante:* crtugo@sescam.jccm.es

### Introducción:

El genotipo del Virus Hepatitis C (VHC) es uno de los factores determinantes en el pronóstico y en la respuesta al tratamiento de la infección crónica por el Virus de la Hepatitis C.

### Objetivo:

Conocer la prevalencia de los distintos genotipos del VHC en el área de Salud de Toledo, así como su distribución según diferentes factores demográficos.

### Materiales y métodos:

Se han estudiado 1079 pacientes infectados por VHC con la siguiente distribución:

- 821 varones, 258 mujeres.

- 754 Españoles, 45 Extranjeros.

- 280 muestras proceden de pacientes internados en dos centros penitenciarios.

El genotipo del virus se determinó mediante una prueba de hibridación reversa (INNO-LIPA), tras amplificación mediante reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR).

## RESULTADOS:

La distribución de genotipos de la población total fue: 1a, 273(25.3%); 1b, 377(34.94%); 1, 99(9.18%); 2, 20(1.85%); 3, 200(18.54%); 4, 108(10%); 5, 2(0.19%).

En cuanto a la distribución por sexos se observa un mayor porcentaje de infección por genotipo 1b en mujeres (58.4%), que en hombres (27.41%). En varones la distribución de genotipos está más repartida: 1a(28.6%), 1b(27.4%), 3(21.1%), 4(11.2%).

En la población de origen extranjero destaca la menor presencia del genotipo 1a, 8.89%, frente al 22.94% de los españoles; así como una mayor proporción de genotipos distintos del 1.

En la población de presos el genotipo más frecuente fue el 1a (34.29%) seguido del 3 (26.07%). En este grupo el genotipo 1b se detectó solo en el 17.5% de los pacientes.

## CONCLUSIONES:

- La distribución de genotipos en nuestra población es similar a otras series descritos en nuestro medio con predominio del genotipo 1b.

- Se observan diferencias en la distribución de genotipos en distintos grupos de población que reflejan el distinto origen geográfico de los pacientes y la vía de adquisición de la infección.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 142

## INFECCIÓN VIRAL MÚLTIPLE EN NIÑOS CON BRONQUITIS

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Arjona Camacho Pilar; Berraz Colmenero, Concepción; Ruiz Pérez Antonia; Pérez Jové, Josefa; García Puig, Roger; Martínez Mejías, Abel.

Centro de trabajo: CATLAB

Provincia: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: pilararjona@hotmail.com

## Objetivo:

Determinar la etiología y la frecuencia de las infecciones virales múltiples en niños con bronquiolitis, así como su relación con la necesidad de ingreso hospitalario.

## Material y métodos:

Se estudiaron prospectivamente 400 muestras de aspirado nasofaríngeo procedentes de 400 niños con edad inferior o igual a 2 años y con diagnóstico de bronquiolitis durante un periodo de 15 meses (septiembre 2009 a diciembre 2010). Todas las muestras fueron procesadas para la realización de una RT-PCR multiplex (SeeplexR, Seegene) que detectaba 15 virus: Influenza A, B (FluA, FluB), Virus respiratorio sincitial A, B (VRSa, VRSB), Adenovirus (AdV), Metapneumovirus (MPV), Coronavirus (229E/NL63, OC43), Parainfluenza 1-4 (Pi1-4), Rhinovirus A/B/C (RV), Enterovirus (EV) y Bocavirus 1/2/3/4 (BoV). Así mismo se estudió en qué casos fue preciso el ingreso hospitalario.

## RESULTADOS:

De las 400 muestras procesadas, 318 fueron positivas (80%). En el 68% de los casos se detectó un solo virus: VRSa 107 (34% del total de casos positivos), RV 67 (21%), Pi 19 (6%), siendo el más frecuente el Pi2 (40% de los virus Pi), MPV 10 (3%), Coronavirus 6 (2%), FluA 5 (2%) i VRSB 4 (1%). En el 32% se detectó infección múltiple simultánea, siendo la coinfección con dos virus la más frecuente (25% del total de positivos) y la combinación VRSa y RV la más detectada (23%), seguida de VRSa y Coronavirus (11%). En un 6% se observaron tres virus sin predominio de ninguna asociación, y en un 1% de las muestras fueron 4 los virus que infectaban. Así mismo de los 400 niños, 144 precisaron ingreso i de estos, 96 (67%) estaban infectados por un virus, 35 (24%) por dos, 7 (5%) por tres i en 1 (1%) coinfectaban 4 virus; en cinco (3%) de los ingresados con bronquiolitis no se observó ningún virus.

## CONCLUSIONES:

1. El VRSa es el virus que produce con más frecuencia bronquiolitis, seguido del RV. 2. En las infecciones múltiples, la coinfección por dos virus es la que se detecta en más casos; VRSa con RV es la combinación más frecuente. 3. Las infecciones múltiples causadas por más de dos virus han sido poco frecuentes, 7% del total de positivos. 4. En este estudio, hay virus que no han producido bronquiolitis por sí solos, AdV, BoV y EV. 5. Las infecciones múltiples (2 o más virus) requirieron menos ingreso que las originadas por un solo virus.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 161

## CONTROL DE CALIDAD DE LAS MUESTRAS DE ESPUTOS.

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: RECUERO GARCIA, M<sup>a</sup> PILAR; PALLÀS SATUÉ, ROSA M<sup>a</sup>; PARÍS ALIAS, INGRID; AIXALÀ CULLERE, NURIA; GARCIA MOLA, ROSA M<sup>a</sup>; GOMEZ MORENTE, MILAGROS; GARCIA GONZALEZ, MERCEDES.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO ARNAU DE VILANOVA

Provincia: LLEIDA

Correo electrónico del primer firmante: mariapilar00@terra.es

## RESUMEN:

CONTROL DE CALIDAD DE LAS MUESTRAS DE ESPUTOS.

Recuero M P; Pallàs R; París I; Aixalà N; García M R; Gómez M; García M.

Laboratorio Clínico Hospital Universitario Arnau de Vilanova. Lleida. (Sección Microbiología).

## Introducción y Objetivos:

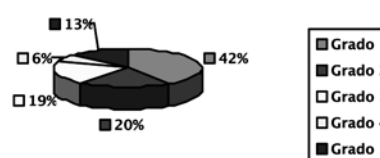
El esputo es una de las muestras más utilizadas en el diagnóstico etiológico de la neumonía de adquisición comunitaria, dado que permite de forma simple, rápida y económica el estudio de las secreciones respiratorias. Pero existe el inconveniente de que la muestra ha de ser representativa realmente del foco inflamatorio y debe proceder de las secreciones de las vías respiratorias inferiores. Por este motivo nos proponemos revisar la calidad de las muestras recibidas en nuestro laboratorio.

## MATERIAL Y METODOS:

Durante 5 meses (septiembre 2010 - enero 2011) se procesan 276 muestras de esputos para cultivo bacteriológico convencional recibidos en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Universitario Arnau de Vilanova de Lleida. Se sembraron de forma convencional en Agar Sangre (Bio-Mérieux), Agar Chocolate (Bio-Mérieux), Agar Mc Conkey y Agar BYCE legionella (Becton -Dickinson), incluyendo la realización de una extensión para su observación al microscopio (tinción de Gram) y hacer una valoración según los criterios de rechazo de Murray y Washington (escala 1-5 de menor a mayor calidad de la muestra).

## RESULTADOS:

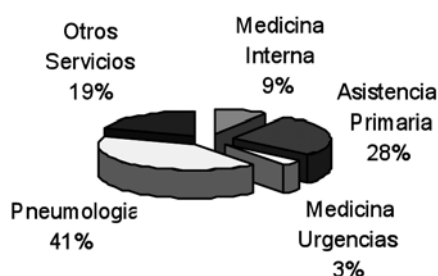
### 267 MUESTRAS ESPUTOS



### Procedencia de Grado 1-2

Otros Servicios	Medicina Interna
11%	18%

### Procedencia de Grado 4-5



	E. Coli	P. Aeruginosa	S. Aureus	Haemofilus Influenza	Flora Saprofita	Otros
Medicina interna (5 muestras)	1	1	-	-	3	-
Asistencia Primaria (16 muestras)	1	3	1	-	10	1
Medicina Urgencias (2 muestras)	-	-	-	2	-	-
Pneumología (24 muestras)	-	5	-	-	17	2
Otros servicios (11 muestras)	1	-	-	1	8	1

## CONCLUSIONES:

Más del 80 % de las muestras tienen contaminación con células de descamación del epitelio bucal (grados 1, 2 y 3), y proceden en gran parte de asistencia primaria.

De las muestras de mejor calidad, P. aeruginosa es el microorganismo que se aísla con mayor frecuencia.

Desde el punto de vista del personal técnico queremos destacar la importante carga de trabajo de estos cultivos que carecen de valor para el paciente.

**DETECCION DE ADENOVIRUS, ASTROVIRUS Y ROTAVIRUS**

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: PALLÀS SATUÉ, ROSA M<sup>a</sup>; RECUERO GARCIA, M<sup>a</sup> PILAR; PARÍS ALIAS, INGRID; GARCIA GONZALEZ, MERCEDES.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO ARNAU DE VILANOVA

Provincia: LLEIDA

Correo electrónico del primer firmante: rosipallas@hotmail.es

**RESUMEN:**

DETECCION DE ADENOVIRUS ASTROVIRUS Y ROTAVIRUS

Pallàs R; Recuero M. P; París I; Aramburu J.

Laboratorio Clínico Hospital Universitario Arnau de Vilanova. Lleida. (Sección Microbiología).

**Introducción:**

Las gastroenteritis agudas (GEA) infantiles, representan una de las afectaciones más comunes en este grupo de edad, siendo importante su diagnóstico rápido, por la implicación que en este cuadro tienen los virus como agentes etiológicos.

**Objetivos:**

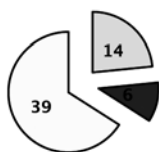
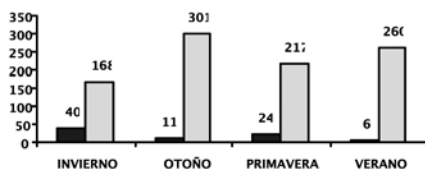
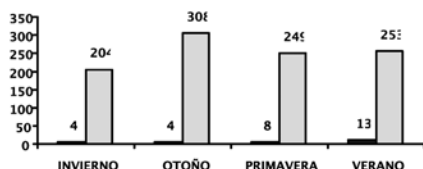
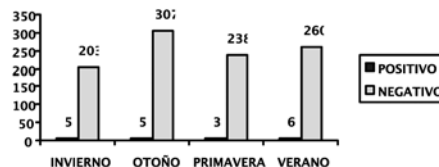
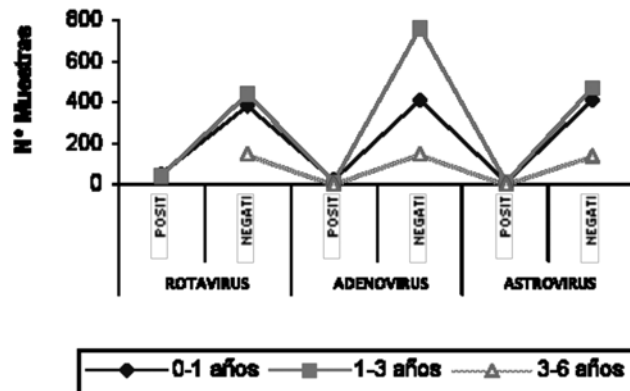
Analizaremos la incidencia de adenovirus, rotavirus y astrovirus en las GEA en diferentes grupos de edad y épocas del año.

**MATERIAL Y METODOS:**

Estudio retrospectivo de niños de hasta seis años diagnosticados de GEA, durante los meses de marzo 2010 hasta febrero 2011, en la Región Sanitaria de Lleida.

Se analizaron en total 1027 muestras.

Para su determinación se realizaron test inmunocromatográficos: biorapid ROTA-ADENO (biokit); Astrovirus (CerTest).

**RESULTADOS****Muestras positivas en hombres****Muestras positivas en mujeres.****ROTAVIRUS****ADENOVIRUS****ASTROVIRUS****SEGUN EDADE:****CONCLUSIONES:**

El Rotavirus es el agente etiológico más importante en todas las estaciones, especialmente en invierno, menos en verano que es el Adenovirus.

El grupo de edad en el que la GEA vírica representa una mayor incidencia es el de 0-1 años. En los grupos (0-1 y 1-3 años) el Rotavirus es el agente etiológico más importante.

**EVALUACIÓN DE GENOQUICK PARA LA DETECCIÓN DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS EN ORINA.**

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Laura Aguilar Amado; M. Pilar A. Ferreras Ferreras; Susana Fernández Gonzalo; M. Carmen Espinosa Menasalvas ; Jesus Arias Hens.

Centro de trabajo: Hospital Universitario de Getafe

Provincia: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: juanmartindc@terra.es

**INTRODUCCION:**

Chlamydia trachomatis es una bacteria intracelular de transmisión sexual que infecta solo a humanos.

La infección urogenital por Chlamydia trachomatis es la infección de transmisión sexual más común en todo el mundo, y un gran problema de salud pública, por ser una enfermedad asintomática.

El método de elección para el diagnóstico de la infección por Chlamydia es la prueba de amplificación de ácidos nucleicos.

**Objetivos:**

Evaluar la técnica de GenoQuick® CT comparándola con la de COBAS® TaqMan® CT test v2.0 que es la técnica de amplificación de ácidos nucleicos que actualmente se utiliza en el Hospital Universitario de Getafe.

**MATERIAL Y METODOS:**

Se estudian 246 muestras de orina recogidas en el servicio de Microbiología del Hospital Universitario de Getafe, desde Abril a Noviembre de 2010. Estas muestras eran tanto de hombres como de mujeres con un posible diagnóstico de infección por Chlamydia trachomatis.

Fueron analizadas por dos métodos COBAS® TaqMan® CT (Roche Diagnostics, Branchburg, New Jersey, USA) y el nuevo método GenoQuick® CT (Hain lifescience, Nehren, Germany).

Se considero Verdadero positivo o negativo, cuando los dos métodos coincidían en el resultado. Los resultados discrepantes fueron repetidos por dos técnicas y los que continuaban siendo discrepantes se procesaron por un tercer método: Abbott Real Time (Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden, Germany).

## RESULTADOS:

TABLA 1. Distribución de resultados en 246 muestras de orinas

Nº de muestras	GenoQuic®CT	COBAS® TaqMan®
31	+	+
3	+	-
1	-	Inhibida
1	-	+
210	-	-

TABLA 2. Discrepancias del análisis

Nº de muestras	GenoQuic®CT	COBAS® TaqMan®	GenoQuic®CT	COBAS® TaqMan®	Abbott Real Time	Conclusión
1	+	-	+	+		Verdadero positivo
1	+	-	-	-		Negativo
1	+	-	+	-	-	Negativo
1	-	Inhibida		-		Negativo
1	-	+	-	+	-	Negativo

## CONCLUSION:

Ambos métodos utilizados tienen una especificidad de 99%, existiendo una pequeña diferencia en la sensibilidad, siendo 100% en GenoQuic® CT y 97% en COBAS® TaqMan® CT.

Con la técnica COBAS® TaqMan® CT se deben procesar 16 muestras para que sea rentable. Sin embargo la rentabilidad de GenoQuic® CT no disminuye si se procesa un número bajo de muestras. Por lo que el GenoQuic® CT es una técnica muy útil para laboratorios con un número pequeño de muestras.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 174

## INFECCIONES RESPIRATORIAS CAUSADAS POR EL VIRUS INFLUENZA A (SUBTIPO H1N1). ¿UNA ENFERMEDAD VIRAL EMERGENTE?

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Díaz Jiménez, Adoración; Santa de Armas, Carmen del Pilar; Minerva García, Rodríguez; Jorge Molina, Bárbara; García Sánchez, Claudio.

Centro de trabajo: Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín.

Provincia: Las Palmas de Gran Canaria

Correo electrónico del primer firmante: pelirrojaapreciosa@yahoo.es

## INTRODUCCION:

Las Enfermedades Virales Emergentes son aquellas que surgen en lugares y momentos específicos, y que tienen la potencialidad de convertirse en nuevas epidemias, afectando tanto a poblaciones humanas como a otras especies biológicas.

## Objetivos:

Analizar las características clínicas y microbiológicas de los pacientes infectados por el Virus Influenza A subtipo H1N1.

## PALABRAS CLAVES:

Virus influenza A, enfermedad viral emergente, pandemia, exudado faríngeo, PCR.

## Material y métodos:

Se analizaron retrospectivamente todos los pacientes ingresados por sintomatología respiratoria con positividad mediante la técnica de Biología molecular de Reacción en Cadena de la Polimerasa en muestras respiratorias para el Virus Influenza A en el período comprendido entre el 1 de Junio de 2009 y el 31 de Diciembre de 2010. De un total de 30 pacientes hospitalizados por éste motivo se recogieron las características demográficas, los antecedentes personales, el motivo principal del ingreso y el tipo de muestras respiratorias recogidas. Se registró la mortalidad hospitalaria y se analizaron los factores que referentes a la misma y a la fiabilidad de diagnóstico por PCR.

## RESULTADOS:

De los 30 pacientes con muestras respiratorias positivas, el 43,3% (n=13) eran mujeres y el 56,7% (17) varones. La edad media fue de 45,03 años. Los antecedentes más frecuentes fueron Hipertensión arterial (30%), asma (30%), inmunodepresión (26,7%), Diabetes Mellitus (23,3%) y obesidad (23,3%). Los síntomas más frecuentes fueron la disnea y la fiebre. En la mayoría de los pacientes la principal muestra respiratoria obtenida fue el Exudado faríngeo; en un sólo paciente la muestra se obtuvo mediante broncoaspirado y la PCR fue positiva en los 30 pacientes recogidos. El 10% de los pacientes precisaron ingreso en una Unidad de Cuidados Intensivos. Fallecieron 4 pacientes (13,3%).

## CONCLUSIONES:

1.- La infección respiratoria causada por el virus Influenza A, especialmente por el subtipo H1N1, es una de las enfermedades virales emergentes importantes en la actualidad. 2.- La mortalidad asociada al virus podría estar relacionada con algunas características individuales de los sujetos afectados. 3.- Las técnicas de Biología molecular son de ayuda

para el diagnóstico inicial de éstas enfermedades. 4.- Son necesarios estudios más amplios para conocer y diagnosticar mejor estas enfermedades.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 177

## ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE LA MONONUCLEOSIS INFECCIOSA EN EL ÁREA DEL COMPLEJO HOSPITALARIO DE JAÉN

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: ARROYO CAMPOS ROSA MARÍA, HEREDIA GALÁN MARIA ÁNGELES, JIMÉNEZ ÁVILA ROSARIO, MESA RUIZ CARMEN, MUÑOZ VILLANUEVA JOSEFA

Centro de trabajo: COMPLEJO HOSPITALARIO DE JAÉN

Correo electrónico del primer firmante: rosa1801@gmail.com

## Introducción:

El virus Epstein Barr (VEB) es un miembro de la familia herpesviridae linfotrópico, en cuyas células establece una infección latente. Este virus es el principal responsable de la Mononucleosis Infecciosa (M.I.), también conocida como Enfermedad del Beso. Un síndrome caracterizado por la presencia de fiebre, adenitis, faringitis y además puede producir diversas formas de cáncer, como el carcinoma nasofaríngeo, el Linfoma de Burkitt, etc.

## Objetivo:

Estudiar la distribución por edad y sexo de los patrones serológicos de la infección por el virus de Epstein Barr en nuestro medio.

## Material y método

Se estudiaron retrospectivamente los resultados de las determinaciones de anticuerpos específicos frente al VEB, realizadas en la Unidad de Gestión Clínica de Microbiología-Parasitología del C.H de Jaén, desde enero hasta diciembre del año 2010. Este laboratorio realiza la serología de VEB para todos los centros sanitarios públicos de sus dos Áreas Sanitarias.

Se excluyeron los pacientes cuya edad no figuraba en la base de datos y los pacientes menores de un año por ser atribuibles las IgG a los anticuerpos maternos.

Se revisaron los resultados de infección por VEB: IgG e IgM de Ag. de cápside p18 (VCA), e IgG frente a antígeno nuclear (EBNA). Se determinaron mediante la técnica de Quimiluminiscencia (CLIA-DiaSorin).

Se clasificaron los pacientes en función de la serología que presentaron:

- Infección aguda: VCA-IgG positivo o negativo, VCA-IgM positivo y EBNA IgG negativo.
- Susceptibles: VCA-IgG negativo, VCA-IgM negativo y EBNA IgG negativo.
- Infección pasada: VCA-IgG positivo, VCA-IgM negativo y EBNA IgG positivo.
- Indeterminados:
  - VCA-IgG positivo, VCA-IgM negativo y EBNA IgG negativo.
  - VCA-IgG positivo, VCA-IgM positivo y EBNA IgG positivo.
- Anómalo: VCA-IgG negativo, VCA-IgM negativo y EBNA IgG positivo.

## RESULTADOS:

Se incluyeron en el estudio un total de 1810 pacientes, de los que 914 eran hombres y 896 mujeres.

Según los resultados serológicos los datos obtenidos fueron:

- infección aguda 163; b) susceptibles 292; c) infección pasada 1026;
- indeterminados 296; y e) anómalos 33.

En los estudios de edades se advierte que en los pacientes con infección aguda tienen mayor incidencia los comprendidos entre los 11 y los 20 años.

El 56,7% de los pacientes estudiados han pasado la enfermedad; de ellos un 33,9% son mayores de cuarenta años.

En la infección aguda el porcentaje de hombres (51,5%), superó al de mujeres (48,5%).

## Conclusión.

La prevalencia de infecciones por virus de Epstein Barr es más frecuente en la población adolescente que en el resto.

Los pacientes susceptibles de pasar la enfermedad son de edades inferiores a 10 años.

La seroprevalencia más elevada es en mayores de cuarenta años.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 181

## ONICOMICOSIS. DERMATOFITOSIS Y CANDIDIASIS

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Márquez Salazar Rafael, Ángela María Guerrero Crespillo, Juan Francisco Ruiz Burgos

Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen de la Victoria de Málaga

Correo electrónico del primer firmante: yeyi\_ms@hotmail.com

## INTODUCCIÓN:

La onicomicosis se define como la infección fúngica de la uña que produce su decoloración, engrosamiento y deformidad, puede ser producida por hongos o por levaduras.



Los hongos dermatofíticos son aquellas que tienen capacidad para colonizar los tejidos queratinizados. Las infecciones cutáneas producidas por hongos superficiales o dermatofitos son muy frecuentes y están producidas por dermatofitos. Las candidiasis representan la infección producida por hongos levaduriformes del género *Candida*, siendo la más conocida la *Candida albicans*. Las infecciones por candidas generalmente están limitadas a la piel, uñas, tracto gastrointestinal y mucosas pero pueden afectar de forma sistémica a varios órganos.

#### Objetivos:

Identificar mediante nuestros medios y métodos los agentes causales más frecuentes de Onicomicosis en el año 2010 en el Hospital Virgen de la Victoria de Málaga.

#### Material y métodos:

El estudio se realiza en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Universitario Virgen de la Victoria de Málaga durante el año 2010.

Para la obtención de la muestra, se coloca la punta de un bisturí por debajo de la lámina ungueal y raspando firmemente tratando de llegar entre la zona sana y la afectada visualizando clínicamente.

En el raspado se obtienen polvo o pequeñas partículas que serán utilizadas para el cultivo en los medios Sabouraud Gentamicina Cloranfenicol, Sabouraud actidiona (mycosel) y Wilkins+amikacin.

Las placas se incuban a 30°C durante 21 días. Se realiza también una digestión de KOH 25% más tinta azul-negra de Parker en portaobjetos para la visualización microscópica de elementos fúngicos.

Para la identificación de levaduras utilizamos el medio Cromogénico CHROMagar (Biomérieux®) y el sistema automatizado VITEK2 (Biomérieux®).

Para la identificación de los hongos filamentosos se realizan subcultivos en medio de patata-Agar Dextrosa, con esto se precisa la morfología y además un examen en porta con Azul de Lactofenol para visualización microscópica.

#### RESULTADOS:

Se tomaron 262 muestras de uñas resultando 208 negativas (79%) y 54 positivas (21%).

Las muestras positivas las diferenciamos en dos grupos: Dermatofitos y Levaduriformes.

Resultando 35 muestras positivas (65%) para Levaduriformes y 19 muestras positivas (35%) para Dermatofitos.

La *Candida parapsilosis* fue la levadura más frecuente aislada con (51%) de 18 muestras positivas.

Dentro de los hongos fue el más frecuente el *Trichophyton Rubrum* con (42%) de 8 muestras positivas.

#### CONCLUSIONES:

Hemos detectado que el 100% de las muestras positivas obtenidas corresponden a personas adultas, dada que esta enfermedad es poco frecuente en los niños antes de la pubertad, debido a su menor exposición a ambientes con alta densidad de esporas o hifas (duchas públicas) y también a su crecimiento más acelerado de la uña (efecto de barrido). La *Candida parapsilosis* fue la levadura más frecuente aislada.

El *Trichophyton Rubrum* fue el hongo más frecuente aislado.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 182

### SEGUIMIENTO DE LEGIONELLA NEUMOPHILA DURANTE EL AÑO 2010 EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LA VICTORIA DE MÁLAGA.

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Guerrero Crespillo Ángela María, Márquez Salazar Rafael, Juan Francisco Ruiz Burgos.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Virgen de la Victoria de Málaga

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

#### Introducción:

La Legionelosis es una enfermedad bacteriana de origen ambiental, suele presentar dos formas clínicas: Enfermedad del Legionario o la conocida como Fiebre de Pontiac. Estas infecciones están causadas por un bacilo gram negativo de la especie *Legionella*, esta bacteria ambiental capaz de sobrevivir en un amplio intervalo de condiciones físico-químicas la encontramos en ambientes acuáticos naturales, de aquí pasan a las redes públicas de nuestras ciudades, y a causa de un mal mantenimiento o mala desinfección colonizan torres de refrigeración y puntos terminales de instalación, multiplicándose entre 20°C y 45°C.

#### Objetivos:

Conocer los casos de *Legionella* positivos en pacientes del Hospital Virgen de la Victoria de Málaga durante el año 2010. Tomamos de referencia la edad de los pacientes, el sexo y meses del año.

#### Material y métodos:

El estudio se realiza en el laboratorio de Microbiología. Las muestras recibidas son de procedencia intrahospitalaria y extrahospitalaria, llegan en recipientes específicos para la recogida de orina estériles.

La prueba se realiza mediante el kit comercial BinaxNOW® de antígeno urinario. (Ensayo inmunocromatográfico de membrana). Para la realización de la prueba las muestras se

concentran a través de método de sedimentación para aumentar la concentración del antígeno presente en la orina.

Para realizar la prueba, se introduce una torunda en la orina concentrada y se inserta en el dispositivo de la prueba (Dicho dispositivo está constituido de una membrana con suero de conejo que contiene anticuerpos específicos por *Legionella pneumophila*). Agregamos seis gotas del reactivo (Citrato/fosfato con Tween® 20 y azida), cerramos el dispositivo y esperamos 15 minutos para la lectura.

La prueba se interpreta mediante la presencia o ausencia de líneas detectables de color rosa a violeta. El resultado positivo incluye la detección tanto de una línea control como la de una línea positiva; En las muestras negativas solo observaremos la línea de control.

#### RESULTADOS:

Se recibieron un total de 1320 muestras de orina durante el año 2010 en nuestro laboratorio, de las cuales 12 fueron positivas (0.9%) y 1308 negativas (91%).

Agrupamos los resultados en los siguientes grupos:

De los datos obtenidos, el 83% de los resultados positivos corresponde a hombres, y el 17% a mujeres.

El siguiente resultado es similar al anterior, mostrando como el 83% de los positivos coinciden con pacientes mayores de 50 años, y el 17% de los resultados se dieron en pacientes menores de 50 años.

Según la estacionalidad de la enfermedad podemos decir que el 66.6% de los casos fueron identificados durante los meses de verano (julio, agosto y septiembre) mientras que la identificación positiva del 33.3% de los casos se realizaron durante los meses de invierno (octubre y diciembre).

#### Conclusión:

Se observa claramente una condicionalidad de la edad en los resultados, encontrándonos el mayor número de resultados positivos en pacientes mayores de 50 años.

Podemos relacionar estos resultados con antecedentes de problemas respiratorios de pacientes que han cursado la enfermedad y a personas que toman medicina que suprimen el sistema inmunitario.

Destacar la gran diferencia que encontramos entre sexos, siendo mayor los casos la aparición de esta enfermedad en hombres que en mujeres.

La gran importancia de la positividad de *Legionella* en meses más cálidos como en verano se debe a que esta bacteria se reproduce en grandes cantidades a altas temperaturas, por lo que será más fácil de inhalar aerosoles que contienen agua contaminada con dicha bacteria.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 183

### CULTIVO SEMICUANTITATIVO DE PUNTA DE CATÉTER. (TÉCNICA DE MAKI)

*Trabajo de:* Microbiología

*Autor/a/s:* Guerrero Crespillo Ángela María, Márquez Salazar Rafael, Juan Francisco Ruiz Burgos

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Virgen de la Victoria de Málaga

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

#### Introducción:

La utilización de los dispositivos intravasculares es causa frecuente y grave de infección hospitalaria. Constituyen la principal causa de bacteriemia nosocomial y como consecuencia bacteriemia.

El cultivo de dicho catéter puede ayudar al clínico a determinar si el cuadro que presenta el paciente es debido al catéter y actuar en consecuencia.

#### Objetivos:

Descripción, lectura e interpretación de cultivos de las puntas de catéteres vasculares para el diagnóstico microbiológico de colonización de vías vasculares durante el año 2010 en el Hospital Virgen de la Victoria de Málaga.

#### Material y métodos:

El estudio se realiza en el Hospital Virgen de la Victoria de Málaga durante el año 2010. Las muestras recibidas en nuestro laboratorio de microbiología son de procedencia intrahospitalaria y llegan en tarro estéril de boca ancha. Se realiza un cultivo semicuantitativo (Técnica de Maki) que permite diferenciar entre infección (si el recuento de la placa es superior a 15 unidades formadoras de colonias o simple colonización (recuento menor a 15 unidades formadoras de colonias). La siembra se realiza en Agar sangre, CHROMagar *Candida* y Sabouraud con Gentamicina y Cloranfenicol, con la ayuda de unas pinzas estériles se rueda el segmento del catéter hacia delante y atrás tres o cuatro veces sobre las placas. Se introduce en Thioglycollate Broth y se incuba 24 horas. La muestra a procesar es el segmento distal del catéter intravascular (3-5 cm). Si el segmento del catéter recibido fuese de una longitud superior, debe cortarse con un bisturí o tijeras estériles en el momento de proceder a su cultivo y procesar los 3-5 cm correspondiente a la punta.

Se incuban las placas en aerobiosis durante 18-48 horas a temperatura de 35°C. Se examinan las placas y el Thioglycollate tras la incubación, si existe crecimiento de colonias efectuar su recuento, después, se efectúa la identificación de género y especie con el sistema automático MicroScan WalkAway (Siemens®) utilizando los paneles PC32, PC31 para gram positivos o NC53 o NC54 para gram negativos. El sistema automatizado Vitek2 (Biomérieux®) para la identificación de levaduras y organismos levaduriformes.

Para la sensibilidad de levaduras usamos el sistema semiautomático por microdilución SENSITITRE (YEASTONE®). De lo contrario, si no existe crecimiento bacteriano se sigue incubando las placas 24 horas.

#### RESULTADOS:

Se recibieron 737 puntas de catéter durante el año 2010 en nuestro laboratorio, de las cuáles fueron positivas 246 (33%) y negativas 491 (67%).

Desglosamos en tres grandes grupos los microorganismos positivos, resultando: 175 muestras (71%) para gram positivos, 57 muestras (23%) resultaron ser gram negativos y 14 muestras (6%) levaduriformes.

Los gérmes que tuvieron más incidencia fueron:

En los gram positivos *Stafilococcus epidermidis* 113 muestras (64%), en los gram negativos *Klebsiella pneumoniae* 18 muestras (31%) y de las levaduriformes la *Candida albicans* 5 muestras (35%).

#### CONCLUSIONES:

1. Los principales agentes causantes de infección por catéter son los estafilococos coagulasa negativo. En concreto el *Stafilococcus epidermidis* es el microorganismo que se aísla más frecuentemente, debido a que forma parte de la flora cutánea, tiene poco requerimiento nutritivo y gran capacidad de adherencia y colonización de las superficies plásticas.

2. El aislamiento de bacilos gram negativos es muy poco frecuente y suele estar relacionado con la contaminación, extrínseca o intrínseca, de las infusiones, en cuyo caso se produce una bacteriemia.

3. Dentro de la colonización por levaduras la que encontramos con más frecuencia es la producida por *Candida albicans*.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 192

#### EVOLUCIÓN VIROLÓGICA, INMUNOLÓGICA Y BIOQUÍMICA DE PACIENTES CON INFECCIÓN VIH MULTIRRESISTENTES TRATADOS CON ANTIRRETROVIRALES DE ÚLTIMA GENERACIÓN

Trabajo de: Microbiología

Autor/a/s: Martín Jerez, María Montserrat, Wadhvani Acosta, Ana C., De La Cruz Badia, Pilar

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE CANARIAS

Provincia: STA. CRUZ DE TENERIFE

Correo electrónico del primer firmante: montsemarjer@hotmail.es

#### RESUMEN:

Los nuevos fármacos antirretrovirales de última generación (Darunavir (DRV), Etravirina (ETR), Raltegravir (RAL) y Maraviroc (MVC) han supuesto una gran esperanza terapéutica para aquellos pacientes con VIH multirresistentes. Consiguiendo un rápido descenso de la carga viral (CV) y un importante incremento de los niveles de linfocitos CD4+.

El objetivo fue valorar a 96 semanas de la respuesta virológica, inmunológica y de la evolución de parámetros lipídicos y hepáticos en pacientes que han recibido en nuestro centro tratamiento con, al menos, uno de los siguientes fármacos: darunavir (DRV), raltegravir (RAL), maraviroc (MRV) o etravirina (ETR), tras fracaso virológico de su terapia antirretroviral (TAR).

El método consistió en seguimiento prospectivo de la evolución de la viremia, cifras de CD4, transaminasas, colesterol total y triglicéridos, desde el momento del inicio del TAR de rescate hasta las 96 semanas en todos los pacientes que han recibido en dicho TAR, al menos, uno de los siguientes fármacos: DRV, RAL, MRV o ETR.

Valoramos: datos demográficos, coinfección por virus de hepatitis C y/o B, efectos adversos y valores de: colesterol, triglicéridos, transaminasas, GGT y creatinina.

Se analizaron 38 pacientes: 76,3% varones. Modo de transmisión: 29% Drogas vía parenteral, 44,7% homosexual y 26,3% heterosexual.

28,9% estaban coinfectados por el VHC y 10,5% por VHB.

En la nueva pauta del tratamiento de rescate un 84,2% recibieron DRV/RIT, un 65,8% ETR, un 65,8% RAL y un 26,3% MRV.

La media de la CVVIH basal previa al inicio del TAR de rescate fue 143719±302695 copias/ml y los niveles de CD4+: 285 células/ml (5-967)

El porcentaje de CV indetectable (CV<40) a las 4 semanas fue un 53% (36 pacientes analizados), a las 12 semanas un 70,6% (34 pacientes), a las 24 semanas un 75% (28 pacientes), a las 48 semanas un 85,7% (21 pacientes), a las 72 semanas un 82,3% (17 pacientes) y a las 96 semanas un 90,9% (11 pacientes).

La ganancia media a las 96 semanas de CD4+ fue 306,5 ± 338,5 células/ml (p<0,001).

Ningún paciente presentó efectos adversos que condicionaran a suspender el tratamiento.

El incremento medio de triglicéridos a las 96 semanas fue 78,7±138,5 mg/dl (p=0,017) y el incremento de colesterol 44,7±70 mg/dl (p=0,06)

No hubo variaciones significativas en niveles de AST, ALT, GGT ni creatinina.

La conclusión es que en nuestro centro el TAR de rescate con, al menos, un fármaco de nueva generación (DRV, ETR, MRV o RAL) consiguió una respuesta virológica en el 90,9% de los pacientes a las 96 semanas. La medicación fue bien tolerada, si bien, el tratamiento de rescate se asoció a incremento significativo de los valores lipídicos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 200

#### SEROPREVALENCIA FRENTE A PARVOVIRUS B19 EN DISTINTOS GRUPOS DE POBLACIÓN

Trabajo de:

Autor/a/s: MARIBEL GARCÍA JIMÉNEZ, LEONARDO JESÚS ISNARD CARO Y MÓNICA SIERRA RODRIGUEZ

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE VALME

Provincia: SEVILLA

Correo electrónico del primer firmante: maribelgarciajimenez@gmail.com

#### RESUMEN:

El Parvovirus B19 es el agente causante del eritema infeccioso, y se asocia con un amplio espectro de patologías, como poliartritis, muerte fetal y anemia grave, en pacientes inmunodeprimidos.

#### Material y métodos:

Para estudiar su prevalencia e incidencia, hemos realizado la detección de anticuerpos IgG e IgM frente al Parvovirus B19 en un total de 382 sueros de 780 pacientes. El método empleado ha sido el de quimioluminiscencia tipo FLASH (tres segundos de lectura de la emisión de luz) con el equipo LIAISON de DiaSorin. Los sueros pertenecen a pacientes de diversos grupos de población: gestantes sanas, niños, hemodializados, reumáticos, infecciosos y pacientes con clínica compatible con infección por Parvovirus B19.

#### RESULTADOS:

Se reflejan en la siguiente tabla:

GRUPOS	NÚMERO	IgG POSITIVAS NÚMERO	%	IgM POSITIVAS NÚMERO	%
GESTANTES SANAS	18	11	61.1	1	5.5
NIÑOS	115	42	36.5	3	2.6
HEMODIALIZADOS	31	22	70.9	0	0
INFECCIOSOS	40	24	60	3	7.5
REUMATOLOGÍA	117	70	59.8	3	2.6
SOSPECHA DE INFECCIÓN	61	42	68.8	5	8.2
TOTAL	382	211	55.2	15	3.9

Al comparar los resultados obtenidos en los diferentes grupos, hemos obtenido diferencias significativas en la prevalencia (p<0.001) entre el grupo de gestantes sanas v.s hemodializados v.s infecciosos; entre niños v.s hemodializados v.s infecciosos y entre reumatología v.s pacientes con sospecha de infección. Al relacionar la presencia de IgG, el sexo y la edad, las diferencias más significativas se han obtenido en el grupo de reumatología. La incidencia de infección, valorada por la presencia de IgM, ha sido muy baja.

#### CONCLUSIONES:

Se ha obtenido una elevada seroprevalencia en todos los grupos estudiados, destacando la obtenida en el grupo de pacientes hemodializados. Resaltamos la baja incidencia de infección obtenida.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 212

#### SEROLOGÍA DE TRYPANOSOMA CRUZI (ENFERMEDAD DE CHAGAS) EN EMBARAZADAS INMIGRANTES.

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Muiño Andrade María José, Fatián Ares María Luisa, Egea Lapina Carmen

Centro de trabajo: Complejo Hospitalario Universitario A Coruña. Servicio Microbiología. Serología

Correo electrónico del primer firmante: Goiente@yahoo.es

#### Introducción:

En España hay unas 700.000 mujeres latinoamericanas en edad fértil, y podría haber unos 1.750 bebés afectados con la enfermedad del Chagas. El *Trypanosoma Cruzi*, responsable de esta enfermedad, se transmite por vía materna a través de sangre y órganos. La enfermedad de Chagas permanece asintomática durante muchos años. Si no se trata se cronifica y permanece latente hasta 20 años. Se manifiesta con cardiopatías y problemas digestivos graves. En etapas tempranas, los fármacos curan a un 10% de los adultos. Cuando la medicación se administra a un bebé, la curación es total.

#### Objetivos:

Prevalencia del *Trypanosoma Cruzi* en mujeres inmigrantes latinoamericanas con perfil de embarazo durante el año 2010 en el área sanitaria de A Coruña.

## Material y métodos:

Se analizaron 150 pacientes inmigrantes mediante test de inmunoensayo enzimático cualitativo en microplaca, del laboratorio ORTHO CLYNICAL DIAGNOSTIC en autoanalizador GENESIS RMP 150.

## RESULTADOS:

Los resultados ponen de relieve una nueva realidad social ya que en nuestra cohorte de pacientes hemos encontrado una prevalencia del 3,33% (5 afectos de 150 casos) procedentes de la zona endémica de Bolivia, Argentina y Perú.

## CONCLUSIONES:

El principal reto actual, con relación a la emergente enfermedad de Chagas en nuestro país, es el control de la transmisión vertical mediante el cribado en embarazadas y recién nacidos de madres seropositivas al antígeno del Trypanosoma Cruzi y el tratamiento precoz de los recién nacidos infectados

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 213

### DETERMINACIÓN DE LA CARGA VIRAL VIH EN MUESTRAS CON BAJO VOLUMEN POR RT-PCR EN TIEMPO REAL (KPCR SIEMENS)

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Noria Rocamonde Carmen, Méndez López Isabel M<sup>a</sup> y Ramos Abis M<sup>a</sup> Fe

*Centro de trabajo:* Hospital Regional Universitario Carlos Haya

*Provincia:* Málaga

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

## Introducción:

La carga viral del VIH se conoce como la cantidad de virus circulante en una muestra biológica y hace referencia al número de copias de RNA del virus de la Inmunodeficiencia humana presentes en un mililitro de plasma, se puede expresar en copias/ml ó en log10. La determinación de la carga viral 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 Carga Viral de un paciente bajo tratamiento antirretroviral permite detectar el fracaso terapéutico con rapidez.

## El Objetivo:

de este trabajo ha sido determinar si la cuantificación del número copias del VIH en muestras con bajo volumen, por lo que es necesario diluirlas para obtener el volumen adecuado para la técnica, es reproducible con la cuantificación de la muestra sin diluir.

## 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 2 módulos, el módulo SP, para hacer la extracción automática del ácido nucleico, para lo cual utiliza 500 ml de plasma. Y el módulo AD, que amplifica y cuantifica el virus en tiempo real.

Para evaluar la validez de la cuantificación de la carga en muestras con bajo volumen decidimos hacer diluciones, con suero negativo, de dos muestras conocidas una con baja carga viral (1.610 copias/ml) y otra con carga viral elevada (2.028.000 copias/ml). Cuantificamos 10 duplicados de diluciones al 1/7 de cada muestra.

## RESULTADOS:

Hemos analizado los 10 duplicados de la muestra de concentración conocida con 2.028.000 copias/ml-6,307 log10 diluida al 1/7 y los valores obtenidos han sido muy similares a los de la muestra sin diluir, con valores entre 6.267 log10 y 6.357 log10.

También hemos analizado los 10 duplicados de la muestra conocida con baja carga (1.610 copias/ml-3,206 log10) diluida al 1/7 y los resultados obtenidos con estas diluciones también han sido muy similares a los de la muestra sin diluir, con valores entre 3,260 log10 y 3.324 log10.

## Conclusión:

Creemos que es válido cuantificar la carga viral del VIH en muestra con bajo volumen con el sistema de Siemens (kPCR Siemens) ya que obtenemos bastante reproducibilidad en los valores, si las muestras presentan cargas superiores a 1.000 copias/ml. Los coeficientes de variación que hemos obtenido con las diluciones es inferior a 0,20 (CV <0.20).

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 223

### ANÁLISIS DE UN TEST RÁPIDO DE VIRUS INFLUENZA EN UN HOSPITAL COMARCAL

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* MARIA PILAR AYAPE ARBE, AITZIBER URRESTARAZU MUGICA, MIREN ITZIAR RODRIGUEZ GOÑI, AITZIBER AZAROLA CORTA, MIREN ANTZINE BIAIN FERNANDEZ DE LA REGUERA.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL DE ZUMARRAGA

*Provincia:* GIPUZKOA

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

## INTRODUCCION / Objetivo:

Se analizaron los resultados obtenidos en la detección del virus Influenzae por el método de detección cualitativa rápida de antígenos de la gripe influenza A+B test QuickVue® de Biomerieux en muestras recibidas en el laboratorio de urgencias del hospital comarcal de Zumarraga.

## MATERIAL Y METODOS:

Durante el periodo de octubre 2010 a 24 febrero 2011, se realizó el test rápido a todos los aspirados nasofaríngeos pediátricos y frotis nasofaríngeos de adultos a los que se les solicitó el test de virus Influenzae.

La prueba del test rápido es un inmunoanálisis de flujo lateral, que utiliza los anticuerpos monoclonales específicos para los antígenos de la gripe A y B.

Las muestras con resultado negativo tanto para el antígeno A y B, así como aquellas muestras con antígeno A positivo se enviaron para la realización de la PCR a nuestro hospital de referencia Hospital Donostia .

## RESULTADOS:

De las 245 muestras realizadas en el laboratorio de Zumarraga fueron negativas 193 (78,7%), positivas 52 (21,3%); de las cuales fueron positivas para el antígeno A 32 (61.5%) y positivas para el antígeno B 20 (38,5%).

De las 193 muestras negativas enviadas al hospital de referencia, 18 (9,3%) fueron detectadas por PCR como positivas al virus Influenzae; de las cuales 10 (55.7%) fueron virus Influenzae A (H1N1), 7 (38,8%) virus Influenzae B y 1 (5,5%) fueron virus Influenzae A (H3N2).

La sensibilidad de nuestro test comparándolo con el método de referencia (PCR) ha sido de un 74,2%(52/70).

De las 30 muestras que se enviaron como virus Influenzae A positivas, 27 (90%) fueron confirmadas por PCR como virus Influenzae A (H1N1), y las 3 restantes fueron no detectables.

De todas las muestras que se analizaron, 11 (4,48%) correspondieron a hisopos nasofaríngeos de adultos que iban a ingresar. En ninguna de las muestras el test rápido detectó virus Influenzae, sin embargo la PCR detectó el virus Influenzae en 4 de ellas (36,36%).

## CONCLUSIONES:

Durante la época gripal estudiada, el tipo de virus circulante mayoritariamente ha correspondido al virus influenzae A H1N1 lo que supone el 61,7% del total de positivos. Solo hubo un virus A no H1N1.

La máxima actividad del virus Influenzae A fue en enero y la del virus Influenzae B en diciembre.

La muestra mas efectiva para la detección del antígeno A y B fue el aspirado nasofaríngeo. El test rápido de diagnóstico puede ayudar a orientar las decisiones, en este caso, de los pediatras del servicio de urgencias del hospital de Zumarraga.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 230

### INCIDENCIA DE AISLADOS PATOLÓGICOS EN HECE EN RELACIÓN A LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLEPTICAS DE LAS MUESTRAS

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Selles Marques, Purificación; Gil Alonso, M<sup>a</sup> Angeles y Artacho Fernandez, Ana

*Centro de trabajo:* Servicio de Analisis Clínicos. H. U. Royo Villanova. C.M.E. Grande Covan

*Provincia:* Zaragoza

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

## INTRODUCCION:

En el periodo comprendido entre el 15/02/2010 hasta el 30/12/2010 se han estudiado 2396 muestras de heces, a las que se les ha realizado cultivo. Las muestras corresponden a 1202 varones y 1191 a mujeres, con edades comprendidas entre 0 y 100 años.

**Objetivo:** El estudio de campo realizado, se planteó con la finalidad de valorar que relación podían tener los aislados patológicos obtenidos de las muestras de heces remitidas a nuestro Servicio, para su análisis, con los aspectos organolépticos de las mismas.

## MATERIAL Y METODOS:

Diariamente se han ido recogiendo los datos correspondientes a las características organolépticas de las muestras de heces que nos han sido remitidas. Para los cultivos realizados, se ha seguido el procedimiento establecido en nuestra Unidad, con siembra en placas de Agar-Sangre, Agar Hektoen, Agar Yersinia, Agar S-S, Agar Campylobacter y Caldo de Selenito. Tras incubación a 37°C durante 18 horas, hemos utilizado para la identificación el sistema Prompt/Walkaway de Siemens. En la fase final del estudio se ha establecido la correlación aislados/caracteres organolépticos

## RESULTADOS:

Se han aislado un total de 145 patológicos (6 % del total de cultivos), de los cuales 85 se identifican con Campylobacter s.p. (58.6 %), 52 con Salmonellas s.p. (35.8 %), 6 con

Staphylococcus aureus (4.1 %) y 2 con Yersinias (1.4 %), lo que representa una incidencia de negativos (flora saprofita) del 94 %.

En el tiempo que ha durado del estudio, no hemos encontrado aislado alguno correspondiente a Shigella.

El número de aislados y su correspondencia con la consistencia/coloración se expresa en la siguiente tabla:

CONSISTENCIA/COLOR	CAMPYLOBACTER	SALMONELLA	YERSINIA	S. AUREUS
Dura amarillenta	0	0	0	0
Dura verdosa	0	0	0	0
Dura parda	0	3	0	0
Dura castaña	0	2	0	0
Pastosa amarillenta	2	2	0	0
Pastosa verdosa	0	1	0	0
Pastosa parda	7	1	0	0
Pastosa castaña	0	2	0	0
Semiblanda amarillenta	2	1	0	0
Semiblanda verdosa	3	1	0	0
Semiblanda parda	7	10	1	1
Semiblanda castaña	4	1	0	0
Blanda amarillenta	22	8	0	3
Blanda verdosa	10	4	0	0
Blanda parda	12	7	0	0
Blanda castaña	4	0	0	0
Líquida amarillenta	5	2	0	1
Líquida verdosa	6	3	0	1
Líquida parda	1	3	1	0
Líquida castaña	0	1	0	0
	85	52	2	6

En los aislados de Campylobacter, macroscópicamente se han observado: 18 muestras con moco, 6 con producción de gas (fermentación o putrefacción) y 1 con abundantes restos de alimentos.

En los aislados de Salmonella, macroscópicamente se observó moco en 4 muestras y producción de gas en 1 muestra

#### CONCLUSIONES:

- 1.- La mayor incidencia de aislados de Campylobacter se da en heces de consistencia blanda y coloración que oscila entre parda a amarillenta-verdosa, coincidiendo con ello el mayor número de muestras con producción de gas.
- 2.- En nuestra área de influencia, la mayor incidencia de aislados de Salmonella se da en heces de consistencia semiblanda y de consistencia blanda, que probablemente corresponde a diferente estadio de aislado en el proceso infecto-contagioso
- 3.- A pesar de lo poco significativo, se observa mayor presencia de S. Aureus en heces con coloración amarillenta con predominio de consistencia blanda.
- 4.- No es significativo la relación de características organolépticas y aislados de Yersinia.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

**Número: 235**

#### ESTUDIO DE GRIPE A H1N1 EN EL ÁREA SANITARIA DEL HOSPITAL DE PONIENTE

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* García Montes Encarnación; Sánchez Serrano Marta; Castillo Gutiérrez Antonia Inmaculada; Valdivia López María Luisa

*Centro de trabajo:* Hospital de Poniente

*Correo electrónico del primer firmante:* encarna.garcia@ephpo.es

#### Introducción:

La gripe A (H1N1) surgida en 2009, fue una pandemia causada por una variante del Influenzavirus A de origen porcino. Este virus fue conocido oficialmente por la Organización Mundial de la Salud como Virus H1N1/09 Pandémico, haciendo referencia al año de su aparición. El 11 de Junio de 2009 la OMS, la clasificó como nivel de alerta seis, es decir, pandemia en curso. El 10 de Agosto de 2010 la OMS anunció el fin de la pandemia, 14 meses después de haberle dado la vuelta al mundo.

#### Objetivo:

Análisis de los casos con sospecha de gripe A (H1N1) registrados en nuestro ámbito sanitario, durante el periodo comprendido entre Septiembre 2009 y Enero 2011.

#### Material y métodos:

Se han incluido aquellos pacientes que presentaron signos de sospecha de gripe y con criterios de ingreso hospitalario tal como indicaba el protocolo. El estudio se realizó en muestras nasofaríngeas mediante Real Time-PCR (Roche®).

#### RESULTADOS:

Durante el período analizado se estudiaron 285 pacientes, en los cuales 199 se obtuvieron resultados negativos y 86 positivos (63 autóctonos y 23 inmigrantes). Los positivos se distribuyeron por sexo y edad en 72 adultos (31 hombres y 41 mujeres) y 14 menores de 12 años (9 niños y 5 niñas), con una media de edad de 35,2 años y un rango de 2-78 años. Los servicios de procedencia fueron: Urgencias (42 adultos y 14 niños), Planta de Medicina Interna (21 adultos) y UCI (9 adultos). De los 86 pacientes con estudio positivo de gripe A (H1N1), 83 evolucionaron favorablemente y 3 de ellos fueron exitus, de los cuales ningún paciente tenía patología de base conocida.

Todos los casos se detectaron durante el año 2009. En el año 2010 se investigaron 35 casos con sospecha pero ninguno de ellos resultó positivo. En Enero 2011 se ha detectado 1 caso que ha requerido su ingreso en UCI, con evolución favorable.

Todos los pacientes recibieron tratamiento específico.

#### CONCLUSIONES:

- En nuestro medio, el virus H1N1 afectó mayoritariamente a mujeres.
- El 27% de los casos correspondieron a población inmigrante, porcentaje equiparable al número de inmigrantes en nuestra zona.
- No se detectó ningún caso durante el año 2010.
- En 2011 estamos observando un mayor número de sospechas diagnósticas, habiéndose detectado un caso positivo, por el virus Gripe AH1, nueva variante, en Enero, requiriéndose ingreso en UCI y evolucionando favorablemente.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

**Número: 236**

#### HEMOPARÁSITOS AISLADOS EN EL ÁREA SANITARIA DEL HOSPITAL DE PONIENTE EN 2009

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Lorente Cruz Dolores; López Cabrera Rosa María; Puertas Hernández María; Guill Simón Dolores.

*Centro de trabajo:* Hospital de Poniente

*Provincia:* Almería

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

#### Introducción:

Los movimientos poblacionales (viajeros e inmigrantes de zonas tropicales) hacen posible que enfermedades no detectadas o erradicadas en nuestro medio, como las producidas por parásitos hematooarios, que necesitan ciertos vectores o huéspedes intermediarios que no están presentes en áreas no endémicas, se diagnostiquen en nuestro país. Entre estas enfermedades encontramos: tripanosomiasis, malaria, filariasis, leishmaniasis, etc.

#### Objetivo:

Conocer el número y diversidad de los parásitos hematooarios diagnosticados en nuestro Hospital durante el año 2009.

#### Material y métodos:

Estudio retrospectivo del número de hemoparásitos diagnosticados en nuestro Hospital durante el año 2009. La búsqueda de filarias en sangre (Wuchereria bancrofti, Loa loa y Mansonella perstans) se realiza mediante test de Knott (centrifugación de la sangre fijada con formaldehído al 2 %).

Para diagnóstico de Plasmodium spp se realizó examen microscópico de la sangre periférica teñida con Giemsa y observación microscópica; también se realiza detección de antígeno por técnicas inmunocromatográficas (NOW Malaria) y amplificación mediante reacción en cadena de la polimerasa mediante estudio de Semi Nested Multiplex Malaria PCR (SnM-PCR).

Para diagnóstico de Leishmaniasis se realizó examen microscópico de la muestra (médula ósea) teñida con Giemsa y amplificación mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en centro de referencia. El estudio serológico de enfermedad de Chagas se realizó mediante ELISA e inmunofluorescencia (IFI) en centro de referencia.

#### RESULTADOS:

En 406 pacientes se investigó la presencia de filarias en sangre, 29 (7,1%) fueron positivos y 377 (92,9%) fueron negativas.

A 7 pacientes se les realizó estudio por PCR de Leishmania, 6 fueron negativas y 1 fue positivo.

De los 112 estudios serológicos realizados para enfermedad de Chagas, 11 (9,8%) resultaron positivos y 101 (90,2%) fueron negativos.

Se realizaron 165 detecciones de antígenos, 5 (3%) fueron positivas para P. vivax / P. malarie / P. ovale / P. falciparum, 1 (0,6%) fue positivo para P. vivax o P. malarie o P. ovale y 1 (0,6%) fue positiva sólo para P. falciparum; 158 (95,8%) fueron negativas. En todos los pacientes se confirmó este resultado por PCR no obteniéndose ningún resultado positivo para P. vivax.

Finalmente, de los 153 estudios de PCR de malaria, 18 (11,8%) fueron positivas y 135 (88,2%) negativas.

La distribución de los microorganismos aislados fue la siguiente:

Microorganismo	Número	Porcentaje
Mansonella perstans	29	60.3

Plasmodium falciparum	14	29,2
Plasmodium malariae	2	4,2
Plasmodium ovale	2	4,2
Leishmania infantum	1	2,1

#### CONCLUSIONES:

Debido a los países de origen de los pacientes atendidos en nuestro Hospital, la filariasis producida por Mansonella perstans se ha convertido en un diagnóstico frecuente en nuestro laboratorio.

En algunos casos el diagnóstico de paludismo sólo se ha realizado por estudio de PCR, por lo que sería importante realizar esta técnica ante toda sospecha de malaria e introducirlo de forma rutinaria. Este diagnóstico ocurre en mayoritariamente en visited and friends and relatives.

El diagnóstico de leishmaniasis en nuestro medio es muy escaso.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 237

### ETIOLOGÍA DE LAS INFECCIONES URINARIAS EXTRAHOSPITALARIAS EN NUESTRA ÁREA SANITARIA

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Lorente Cruz Dolores; Guill Simón Dolores; Lopez Cabrera Rosa María; Navarro Partido María del Mar; González García María José

Centro de trabajo: Hospital de Poniente

Provincia: Almería

Correo electrónico del primer firmante: lorentelo@gmail.com

#### Introducción:

Las infecciones de vías urinarias bajas son un problema frecuente en las consultas de Atención Primaria, estimándose que suponen entre un 5 y 10% de todas las consultas extrahospitalarias.

#### Objetivo:

Conocer y analizar los principales agentes etiológicos aislados en orina procedentes de pacientes de Atención Primaria en el área de influencia del Hospital de Poniente que atiende a una población de unos 300.000 habitantes.

#### Material y métodos:

Estudio retrospectivo de los urocultivos positivos desde Enero de 2008 hasta Diciembre de 2009, excluyéndose los microorganismos de dudosa significación clínica. Las muestras de orina se siembran en agar cromogénico CPS3 de Biomerieux® y se consideran urocultivos positivos aquellos con recuento de 100.000 o más UFC/ml, según el criterio de Kass, o bien recuento de entre 103 y 105 UFC/ml con leucocituria positiva y/o sintomatología clínica, según los criterios de Stamm. La identificación se realizó mediante sistema automático Vitek2 de Biomerieux®.

#### RESULTADOS:

De las 37.167 muestras de orinas extrahospitalarias procesadas en 2008, se aislaron 6.707 (18%) uropatógenos y de 38.576 muestras de orina procesadas en 2009, 7.094 (18,4%) fueron positivas, con la siguiente frecuencia de distribución de microorganismos aislados:

Microorganismos 2008	Nº aislam	%	Microorganismos 2009	Nº aislam	%
Escherichia coli	2978	44,36	Escherichia coli	3106	43,76
Enterococcus faecalis	1262	18,80	Enterococcus faecalis	1270	17,89
Otras Enterobacterias	1027	15,30	Streptococcus agalactiae	1170	16,48
Streptococcus agalactiae	978	14,57	Otras Enterobacterias	1074	15,13
Candida spp	210	3,13	Candida spp	157	2,21
Pseudomonas spp y otros BGNNF	153	2,28	Pseudomonas spp y otros BGNNF	146	2,06
St. saprophyticus	40	0,60	St. saprophyticus	67	0,94
Staphylococcus aureus	38	0,57	Enterococcus faecium	45	0,63
Acinetobacter spp	14	0,21	Staphylococcus aureus	40	0,56
Aeromonas spp	5	0,07	Acinetobacter spp	18	0,25
Enterococcus faecium	2	0,03	Aeromonas spp	5	0,07
			Salmonella spp	1	0,01

#### CONCLUSIONES:

En concordancia con lo descrito en las diferentes series publicadas el microorganismo aislado con más frecuencia es E. coli en los dos años estudiados, con porcentaje bastante inferior (60-70%) respecto a otras áreas sanitarias y a años anteriores en nuestro laboratorio (datos no publicados).

En nuestro medio, el Streptococcus agalactiae ocupa el 3º y 4º lugar de frecuencia de aislamiento, pudiendo influir en ello el elevado nº de screening en gestantes realizados.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 242

### IMPLICACIÓN del VIRUS de la HEPATITIS E en las HEPATITIS AGUDAS en ASTURIAS

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: LÓPEZ MATEO, Mª del ROSARIO; RODRÍGUEZ LEDO, MARIA CARMEN; MARTÍNEZ RODRIGUEZ, MARÍA; DÍAZ CARRIO, CARMEN; ROSETE URÍA, YAIZA

Centro de trabajo: MICROBIOLOGÍA HOSPITAL UNIVERSITARIO CENTRAL de ASTURIAS

Correo electrónico del primer firmante: (LMOROALVAREZ@HOTMAIL.COM)

#### Introducción:

- El virus de la Hepatitis E (VHE) es un virus RNA de cadena sencilla con polaridad positiva, único virus hepático con reservorio animal (cerdos, jabalíes y aves entre otros). Se transmite por vía feco-oral produciendo enfermedad sintomática aguda que no cronifica. Su gravedad aumenta con la edad y es especialmente grave en el último semestre del embarazo. Es endémico en países en vías de desarrollo donde ha sido documentada entre el 3-26% de seroprevalencia. En los países desarrollados se producen casos aislados sin epidemias con una seroprevalencia del 1-3%, en España hay pocos estudios de prevalencia sobre este agente.

#### Objetivos:

- Conocer la implicación del VHE en un grupo de pacientes diagnosticado de hepatitis agudas en Asturias.

#### Material y métodos:

- Se estudiaron 191 muestras de suero recibidas durante el año 2010 procedente de varios centros de la región. Las muestras pertenecían a 184 pacientes (100 varones y 84 mujeres) con diagnóstico de hepatitis aguda cuya media de edad era de 51,9 años (rango 9-91).

A 43 de los pacientes procedentes de las consultas de nuestro hospital se les aplicó el protocolo establecido para estos casos y se completó el estudio de otros virus hepatotropos: HBsAg y AntiHBc IgM, HAV IgM y Anti VHC (Architect, Abbott). VEB-VCA IgM y CMV IgM para los virus de Epstein-Barr y Citomegalovirus (Liaison, DiaSorin).

La presencia del VHE se determinó por la detección de anticuerpos anti-VHE IgM mediante ELISA (Radim). Los resultados positivos fueron confirmados mediante INMUNOBLOT. Se realizó la detección del ARN del virus por PCR anidada usando cebadores frente al gen ORF.

#### RESULTADOS:

Encontramos 10/184 pacientes (5,4%, media de edad de 72,3 años) con anti-VHE IgM positivo, de los cuales el 80% eran varones, todos ellos procedían del medio rural y habían estado en contacto con ganado porcino. Uno de ellos, con resultado ELISA débilmente positivo, no se confirmó por Inmunoblot. Siete fueron positivos mediante RT-PCR y 5 anti-VHE IgG positivo.

De los 43 pacientes estudiados para otros virus 3 tenían Hepatitis B, 6 Hepatitis A, 1 Hepatitis C, 2 VEB y 3 CMV. Tres pacientes presentaban resultados positivos para VHA y, además otros virus (2 CMV y 1 VEB).

#### CONCLUSIONES:-

La hepatitis por VHE es más frecuente de lo esperado en nuestro área sanitaria. Debería plantearse incluir el VHE en el protocolo de diagnóstico de hepatitis aguda. Hasta ahora sólo se realiza a viajeros o personas procedentes de zonas endémicas.

En nuestro estudio la media de edad (72,3 años) de los individuos afectados por VHE es muy superior a la publicada por otros estudios similares.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 243

### PREVALENCIA DE RESISTENCIAS A QUINOLONAS Y OTROS ANTIMICROBIANOS DE USO EMPÍRICO EN EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES POR Yersinia enterocolitica.

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: INMACULADA ZORIO REYES, DUNIA MONTESDEOCA MOLINA, ROSA GUERRA ROGER, DOLORES VELAZQUEZ MIRANDA SUPERVISADAS POR DRS. CLAUDIO GARCIA SANCHEZ, ISABEL ALAMO ANTUNEZ.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE GRAN CANARIA DR NEGRIN

Provincia: LAS PALMAS

Correo electrónico del primer firmante: cuca\_zorio@hotmail.com

#### Objetivo:

Estudiar la sensibilidad a antimicrobianos de Yersinia enterocolitica patógenas aisladas de pacientes hospitalizados entre los años 2000 y 2008.

#### Material y método:

Se realizó la identificación, biotipado y serogrupo. La sensibilidad a antimicrobianos se estudió por técnica de disco difusión según guía CLSI. Los antimicrobianos testados constan en la tabla 1.

#### RESULTADOS:

Se procesaron 26.299 coprocultivos, aislándose 75 cepas de Yersinia enterocolitica

patógenas (0,28%), correspondientes a 72 pacientes. Una cepa se aisló en heces y sangre. Todas ellas fueron identificadas como *Yersinia enterocolitica* biotipo 4 serogrupo O:3. No encontramos estacionalidad aunque si una tendencia a la disminución de la incidencia anual. Los resultados de sensibilidad de nuestros aislados aparecen en la tabla 1. Todas las cepas fueron resistentes a AMP y CF. Un 63% presentaron resistencia a otros antimicrobianos de forma simultánea (tabla 2).

Tabla 1: CEPAS SENSIBLES			Tabla 2: RESISTENCIA MULTIPLE	
ANTIMICROBIANOS	N = 72	%	AMC NA NOR CIP	1 (1,4%)
Ampicilina (AMP)	0	0	AMC SXT TE C	1 (1,4%)
Amoxicilina-Ac. clavulánico (AMC)	63	87,5	AMC SXT NA C	1 (1,4%)
Cefalotina (CF)	0	0	AMC SXT	1 (1,4%)
Cefoxitina (FOX)	71	98,6	AMC TE	1 (1,4%)
Ceftriaxona (CRO)	72	100	AMC C	1 (1,4%)
Gentamicina (GM)	72	100	AMC TE C	1 (1,4%)
Tobramicina (NN)	70	97,2	AMC NA C	1 (1,4%)
Amikacina (AN)	72	100	SXT NA TE C	2 (2,9%)
Netilmicina (NET)	72	100	SXT NA C	3 (4,2%)
Ácido nalidíxico (NA)	51	71	SXT TE C	4 (5,5%)
Norfloxacin (NOR)	70	97,2	SXT C	9 (12,5%)
Ciprofloxacina (CIP)	70	97,2	NA NOR CIP	1 (1,4%)
Cloranfenicol (C)	18	25	NA C	8 (11,1%)
Tetraciclina (TE)	52	72,2	NA TE C	2 (2,9%)
Cotrimoxazol (SXT)	44	61	TE C	8 (11,1%)

CONCLUSIONES:

La resistencia a NA, SXT y TE es demasiado elevada para usarlos como tratamiento empírico, por lo que se usarían según el resultado del antibiograma. Las cefalosporinas de 3ª generación y aminoglucósidos son opciones empíricas útiles. *Yersinia enterocolitica*, quinolonas, fluorquinolonas, cotrimoxazol.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 244

ENCEFALITIS HERPÉTICA

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: INMACULADA ZORIO REYES, DUNIA MONTESDEOCA MOLINA, ROSA GUERRA ROGER, DOLORES VELAZQUEZ MIRANDA SUPERVISADAS POR DRS. CLAUDIO GARCIA SANCHEZ, MARIA JOSE PENA LOPEZ.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE GRAN CANARIA DR NEGRIN

Provincia: LAS PALMAS

Correo electrónico del primer firmante: cuca\_zorio@hotmail.com

Objetivo:

El virus herpes simplex tipo 1 (VHS1) es la principal causa de encefalitis infecciosa esporádica. La dificultad para reconocer el cuadro clínico hace que en ocasiones se retrase el tratamiento, lo que se asocia a un peor pronóstico de la enfermedad. El objetivo del estudio fue conocer la presentación clínica y pronóstico de la encefalitis herpética (EH) en nuestro medio y analizar las causas del retraso del tratamiento.

PACIENTES Y Métodos:

Estudio retrospectivo de los pacientes con EH diagnosticados en nuestro hospital con una prueba de reacción en cadena de la polimerasa positiva para el VHS durante un período de 9 años (2001-2009). Se analizaron las características clínicas, radiológicas, analíticas y las secuelas de la enfermedad utilizando la escala de Rankin modificada. Se definió inicio tardío del tratamiento cuando éste se instauró después de 24 horas del ingreso.

RESULTADOS:

Se diagnosticaron 13 pacientes, 11 adultos y 2 niños (uno de 9 años y otro de 18 días). En los adultos, la edad media fue de 57 años (rango: 21-71) y el 63,6% fueron mujeres. En todos los pacientes se detectó VHS1, excepto en el neonato en que se detectó VHS tipo 2. Ocho pacientes (61,5%) presentaron alguna enfermedad de base, principalmente diabetes mellitus y epilepsia. Los principales síntomas clínicos al ingreso fueron la fiebre y el síndrome confusional agudo (SCA) en el 92% de los casos y déficit neurológico focal en el 61%. Dos pacientes entraron en coma durante el ingreso. Todos los pacientes presentaron pleocitosis (>5 leucocitos/mpl), dos con recuento <10 leucocitos/mpl, principalmente con predominio linfocitario. El 61% de los pacientes presentaron hiperproteinorraquia. En los adultos, las tomografías computerizadas (TC) al ingreso fueron sugestivas de EH en el 63,3% de los casos (presencia de lesiones hipodensas en lóbulos temporales y/o frontales), y en el 36,7% se sugirieron otras alternativas diagnósticas, principalmente un accidente cerebrovascular (ACV). En los dos niños no se observaron lesiones de encefalitis en la TC inicial. Todos los pacientes recibieron tratamiento con aciclovir, aunque en 8 el inicio fue tardío (tres por confusión con un ACV, tres por retraso de la TC, uno por presentar

una TC al ingreso sin alteraciones y uno por causa desconocida). El 53,8% completaron un ciclo de 14 días y 46,2% prolongaron el tratamiento. Ocho pacientes (61,7%) presentaron secuelas, de los que 6 iniciaron el tratamiento de forma tardía. En 6 pacientes (46,3%) las secuelas se categorizaron como ≥3 y en dos (15,4%) como ≤2. Solo un paciente (7,7%), con deterioro neurológico grave asociado a neumonía y enolismo crónico, falleció.

CONCLUSIONES:

Las manifestaciones clínicas más frecuentes de la EH fueron fiebre y SCA. En los adultos la TC suele ser patológica aunque con frecuencia las lesiones no son sugestivas al inicio del cuadro, lo que puede retrasar la administración del tratamiento. El 75% de nuestros pacientes con retraso del tratamiento presentó secuelas, por tanto se debería mantener la sospecha clínica e iniciar el tratamiento incluso antes de la confirmación microbiológica o de las pruebas de imagen si éstas se demoran

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 258

ETIOLOGIA DE LOS ABSCESOS DE PACIENTES HOSPITALIZADOS Y AMBULATORIOS DEL EREA DEL HOSPITAL DE VALME DE SEVILLA

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Morales Galán Pilar, Isnard Caro Leonardo Jesús, Coronilla Jaén Julian, García López Jose Luis, Martín Mazuelos Estrella.

Centro de trabajo: UCEIM, H U Valme. Sevilla

Correo electrónico del primer firmante: pilarmoralesgalan@hotmail.com

Objetivo:

Describir la etiología de los abscesos cultivados en nuestro laboratorio procedentes del Área Hospitalaria de Valme durante los años 2009 y 2010

Material y métodos:

Se cultivaron 1614 muestras de abscesos (978 procedentes de pacientes ingresados en el hospital y 636 pacientes ambulatorios): 448 abscesos abdominales, 871 cutáneos, 41 hepáticos, 8 pulmonares, 5 de mama, 5 subfrénicos, 6 de senos, 5 renales y 225 sin especificar. Las muestras a su llegada al laboratorio se sembraron en medio líquido y en placas para incubación en aerobiosis y anaerobiosis, según técnicas convencionales. Se incubaron un mínimo de 48 h con un examen previo de las placas aerobias a las 48 h. La identificación de los microorganismos aislados se realizó mediante el sistema Vitek 2 (bioMérieux) o Micro Scan Walk Away 96 (Siemens), cuando fue necesario se usaron pruebas convencionales

RESULTADOS:

Se aislaron 940 microorganismos (653 a partir de muestras intrahospitalarias y 287 de extrahospitalarias). En la siguiente tabla muestra la distribución de los mismos.

Microorganismos	Intra		Extra	
	n	%	n	%
Staphylococcus aureus	107	16.4	80	27.9
Enterococcus spp	67	10.3	15	5.2
Streptococcus beta hemolíticos	30	4.6	17	5.9
Streptococcus alfa hemolíticos	24	3.7	22	
7.7				
Staphylococcus coagulasa negatico	14	2.1	2	0.7
Total CGP	242	37.1	136	47.4
Escherichia coli	122	18.7	45	15.7
Morganella spp+Proteus spp+Providencia spp	57	8.7	26	9.1
Klebsiella spp	42	6.4	13	4.6
Pseudomonas aeruginosa	37	5.6	10	3.5
Enterobacter spp	17	2.7	14	4.9
Citrobacter spp	12	1.8	7	2.4
Serratia spp	5	0.8	1	0.3
Otros BGNF	9	1.4	1	0.3
Haemophilus spp	6	0.9	2	0.7
Total BGN	307	47	119	41.5
Bacteroides grupo fragilis	49	7.5	11	3.9
Prevotella spp	18	2.8	8	2.8
Clostridium spp	4	0.6	3	1.0
CGP anaerobios	12	1.8	7	2.4
Total Anaerobios	83	12.7	29	10.1
Candida albicans	16	2.4	2	0.7
Candida spp	5	0.8	1	0.3
Total Levaduras	21	3.2	3	1
TOTAL	653		287	

## CONCLUSIONES:

1. En los abscesos procedentes del área extrahospitalare predominan los CGP, siendo *S. aureus* el microorganismo aislado con más frecuencia mientras que en los procedentes del área intrahospitalera predominan los BGN, siendo *E. coli* el microorganismo aislado con más frecuencia. 2 Los aislamientos de levaduras son tres veces mas frecuentes en el área intra que extrahospitalarea

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 263

## CARACTERÍSTICAS CITOLÓGICAS DEL LAVADO BRONCOALVEOLAR (BAL) EN LA INFECCIÓN POR CITOMEGALOVIRUS Y VIRUS HERPES SIMPLE

Trabajo de: Hematología.

Autor/a/s: Sara Vergara, Lucia Galiano, Nùria López, Jordi Hernández, Elisa Orna, Jose Tomás Navarro, Àgueda Hernández, Rosa Albertí, Fuensanta Millà

Centro de trabajo: Hospital Universitari Germans Trias i Pujol

Provincia: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: moreni\_4@hotmail.com

### Introducción y Objetivo:

El virus del herpes simple (VHS) y citomegalovirus (CMV) causan neumonías tanto en pacientes inmunocompetentes como inmunodeprimidos. Los métodos de cultivo son eficaces para el aislamiento vírico y deben ser incluidos para confirmar y/o completar el diagnóstico etiológico de las infecciones pulmonares. En los pacientes con neumonía de evolución atípica y en los pacientes inmunodeprimidos, la fibrobroncoscopia y el cultivo virológico del lavado broncoalveolar (BAL) ha demostrado utilidad. La composición celular del BAL puede aportar también información de gran utilidad diagnóstica.

### Los objetivos de nuestro trabajo fueron:

Analizar las características citológicas del BAL de pacientes con sospecha de infección pulmonar y cultivo positivo para CMV y VHS.

Estudiar las características del BAL en relación con la infección por VIH en pacientes sin enfermedad hematológica de base.

### Material y métodos:

Se revisaron los datos de los BAL procesados entre los años 2001-10 con cultivo microbiológico positivo para CMV y VHS. Para el análisis citológico del BAL se realizó un recuento leucocitario en un autoanalizador hematológico. Posteriormente, se obtuvo un botón celular por citocentrifugación de la muestra que fue teñido con May Grünwald-Giemsa. La técnica de cultivo virológico empleada fue el shell-vial con monocapa de células MRC-5.

### RESULTADOS:

El cultivo virológico del BAL fue positivo en 65 pacientes: 35 (54%) para CMV, 27 (41%) para VHS y 3 (5%) para ambos virus. De estos pacientes, 48 (74%) fueron hombres y 17 (26%) mujeres. La media de edad fue 53 años (24-80). Veintiseis pacientes (40%) eran VIH+ y 12 (18%) tenían una enfermedad hematológica de base.

Tabla 1: características morfológicas según el virus aislado.

	VHS+ (n=27)	CMV+ (n=35)	p
Leucocitos (cel/mm3)	584.62(597.79)	291.43(142.19)	0.029
Segmentados (%)	39.77 (36.16)	19.29 (24.02)	0.028
Linfocitos (%)	10.15 (15.09)	12.85 (15.96)	0.247
Eosinófilos (%)	0.65 (1.83)	0.97 (1.68)	0.276
Mastocitos (%)	0.04 (0.20)	0.29 (0.52)	0.020
Macrófagos (%)	49.27 (34.36)	63.62 (24.98)	0.136
Pneumocystis jiroveci (nº pac.)	6	13	
Inclusiones víricas (nº pac.)	0	2	
Bacterias (nº pac.)	2	0	
Hifas (nº pac.)	2	0	
Pseudohifas (nº pac.)	1	1	
Enfermedad hematológica	9*	4*	0.383

Tabla 2: Características del BAL en relación a la infección por el VIH en pacientes sin enfermedad hematológica

	VIH+ (n=24)	VIH- (n=29)	p
Leucocitos(cel/mm³)	347.83 (246.56)	496.55 (551.93)	0.213
Segmentados (%)	16.68 (21.77)	37.86 (34.28)	0.022
Linfocitos (%)	12.27 (16.49)	10.93 (13.87)	0.768
Eosinófilos (%)	1.23 (1.93)	0.55 (1.70)	0.115
Mastocitos (%)	0.23 (0.43)	0.21 (0.49)	0.679
Macrófagos (%)	67.31 (24.36)	48.59 (29.96)	0.023
P. jiroveci (nº pac.)		16	3

Inclusiones víricas (nº pac.)	0	2	
Pseudohifas (nº pac.)	0	2	

\* Un paciente con cultivo positivo para ambos virus.

## CONCLUSIONES:

En los BAL en los que se aisló VHS la cifra de leucocitos totales y polimorfonucleares fue superior a la de los BAL positivos por CMV.

En los pacientes con enfermedad hematológica se encontró una mayor prevalencia del VHS y menor de CMV que en los pacientes sin enfermedad hematológica.

La infección por *P. jiroveci* es más frecuente en los pacientes VIH positivos, siendo la cifra de polimorfonucleares menor y la de macrófagos mayor.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 267

## INFECCIÓN POR PSEUDOMONA AERUGINOSA EN PACIENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: M<sup>o</sup>Elena García Estivill; Montserrat Prieto Grueso; Montserrat Aznar Santos; Raquel Moreno Ramírez; Josep Vegué Collado

Centro de trabajo: Ciudad Sanitaria Vall d'Hebron

Provincia: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: monviel@hotmail.com

### Introducción:

Los pacientes con enfermedades pulmonares crónicas como la fibrosis quística, están predispuestos a sufrir infección persistente en el tracto respiratorio inferior. La principal causa es *Pseudomonas aeruginosa*. Tratar precozmente la infección inicial puede evitar o retrasar la infección crónica que una vez establecida es difícil de erradicar.

### Objetivo:

Caracterizar un grupo de 110 pacientes afectados de fibrosis quística. Establecer el grado de infección por *Pseudomonas aeruginosa* y analizar el tipo de microorganismos presentes en el esputo, en el momento del estudio.

### Material y métodos:

Las muestras de esputo previamente homogeneizadas con N- acetil cisteína se sembraron en agar Mconkey, Chapman y Sabouraud. Asimismo, se han revisado retrospectivamente los resultados de los cultivos de esputo durante un período de 10 años, previos a la toma de la muestra.

### RESULTADOS:

La media de edad de los 110 pacientes (52 niños) era de 9 años (0 a 18 años). El diagnóstico de fibrosis quística se realizó en el nacimiento (74,5%), o antes de los 2 años (9%) y sólo en un 15% más tardíamente. En 19 pacientes (17%) nunca se había aislado previamente *Pseudomonas aeruginosa* (Grupo A), en 22 pacientes (20%) sólo se había aislado en una ocasión (Grupo B). En 61 pacientes (55,5%) se había aislado previamente de forma intermitente, dentro de este grupo, en 44 de ellos no se aisló en la muestra de esputo del estudio (Grupo C), pero sí en 17 casos (Grupo D). En los 8 casos (7,2%) con aislamiento crónico de *P. aeruginosa* también se aisló en el esputo analizado en el estudio. Globalmente se aisló *P. aeruginosa* en el esputo obtenido para el estudio en un 23%.

Respecto a otros microorganismos, el más frecuentemente aislado fue *Staphylococcus aureus* (34,5%) y su distribución entre los distintos grupos fue: A= 32%, B= 32%, C= 41%, D= 29% y E= 25%. *Staphylococcus aureus* se aisló en mayor proporción en niños de más edad, 44% entre niños de 6-10 años y un 45% >10 años mientras que entre los niños de 0- 5 años sólo se aisló en un 18%.

El aislamiento de otros bacilos gramnegativos, levaduras y hongos filamentosos fue menor (12 %). Su distribución según los grupos fue: A= 21%, B= 23%, C=7%, D= 6% y E= 0%.

### CONCLUSIONES:

1. El diagnóstico de Fibrosis quística y el seguimiento de los pacientes es muy precoz en la mayoría de los casos (83,5% antes de los 2 años).
2. *Staphylococcus aureus*(34,5%) se aisló con más frecuencia que *P. aeruginosa* (23%).
3. *Staphylococcus aureus* se aisló con más frecuencia en niños mayores de 6 años.
4. La frecuencia de infección crónica por *P. aeruginosa* es baja (7,2%).

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 268

## SEROEPIDEMIOLÓGIA DEL VIRUS VARICELA ZOSTER EN EL AREA SANITARIA DEL COMPLEJO HOSPITALARIO DE JAÉN

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Emilia Moreno Villar, Isabel Moya Cazalilla, Pilar Berrios Martínez, Rosario Jimenez Ávila, Maria Angeles Heredia Galán, colaboradora Carolina Roldán Fontana.

Centro de trabajo: UGC-Microbiología. C.H. Jaén.

Correo electrónico del primer firmante: soraya\_loka\_25@hotmail.com

## Introducción:

El virus Varicela-Zoster produce dos entidades clínicas distintas: Varicela y Herpes Zoster. La varicela es la infección primaria del virus que se manifiesta como una de las enfermedades exantemáticas febriles de la infancia mas frecuentes y muy contagiosa, existiendo una población entre 4%-20% que alcanzan la edad adulta sin padecer la infección. La varicela en las mujeres embarazadas conlleva un riesgo para el feto por la posible transmisión vertical que ocurre en el 2% de las mujeres que adquieren la infección durante las primeras 20 semanas de gestación.

El único reservorio de este virus es el hombre y su vía principal de transmisión es la respiratoria. El periodo de incubación es de 2-3 semanas, siendo el paciente contagioso desde 48 horas antes del comienzo del exantema vesicular hasta que todas las vesículas forman costras.

El Herpes-Zoster es una enfermedad esporádica debida a la reactivación del virus latente situado en los ganglios de las raíces dorsales.

## Objetivo:

Conocer la seroepidemiología de la infección por el virus de Varicela-Zoster en el área sanitaria del Complejo Hospitalario de Jaén

## Material y métodos:

Se ha realizado un estudio retrospectivo, descriptivo de los resultados de las determinaciones de anticuerpos específicos IgG e IgM frente al Virus Varicela Zoster realizados en la Unidad de Gestión Clínica de Microbiología y Parasitología del Complejo Hospitalario de Jaén.

Se contabilizan una muestra por paciente y se excluyen del estudio aquellos resultados en los que no consta la edad del paciente y los pacientes menores de 1 año por ser atribuibles los anticuerpos IgG maternos.

El estudio se ha realizado en función de edad (1-5; 6-14; 15-30; >30 años) y sexo diferenciando un subgrupo de embarazadas.

La determinación de anticuerpos IgG e IgM se realizó mediante técnica de quimioluminiscencia (CLIA) de DIASORIN.

Agrupamos a la población en función del patrón serológico como: Inmunizados: IgG (+) IgM (-); Infección aguda: IgM (+); Susceptibles: IgG(-), IgM(-) y Embarazadas

## RESULTADOS:

Se incluyeron en el estudio un total de 429 pacientes de los cuales 273 eran mujeres (130 gestantes) y 156 hombres.

La distribución por grupos fue la siguiente: Inmunizados 83,21%, susceptibles un 16,32%, infección aguda en el 0,47%, (el diagnóstico es fundamentalmente clínico). Dentro del grupo de embarazadas detectamos el 17,2% de susceptibles.

La población de personas inmunizadas va aumentando con la edad desde un 23,5% en el grupo de 1-5 años hasta un 87,3% detectado en la población de >30 años.

## CONCLUSIONES:

La detección de anticuerpos frente al virus de la Varicela-Zoster permite conocer los pacientes susceptibles de infección primaria y de vacunación. En nuestra área geográfica existe una población susceptible superior al 16%

Recomendamos la vacunación frente al Virus de la Varicela Zoster a partir de los 12 años para reducir la incidencia de la varicela en edades a partir de las cuales las complicaciones son más frecuentes y graves.

Próximamente se comercializará la vacuna frente a Herpes Zoster (Zostavax®) recomendada para población >60 años, independientemente de su estado serológico.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 269

## ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA DETERMINACIÓN DE TROPISMO CCR5 EN LA POBLACIÓN ATENDIDA EN EL HOSPITAL GENERAL DE L'HOSPITALET ENTRE LOS AÑOS 2008-2010

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Maria del Mar Vazquez Perez-Nuria Pons Lozano

Centro de trabajo: Hospital General de L'Hospitalet

Correo electrónico del primer firmante: mvazquez@sanitatintegral.org

## Introducción:

Entre los años 2008 al 2010, se llevó a cabo en el Hospital General de L Hospitalet un estudio para la determinación del Tropismo viral en los pacientes atendidos en el servicio de Enfermedades Infecciosas para evaluar la susceptibilidad del tratamiento con un medicamento antagonista de CCR5, así como el seguimiento de estos pacientes post-tratamiento para evaluar su respuesta en relación a la utilización de dicho fármaco.

## Objetivo:

El objetivo de la determinación, ha sido evaluar el tropismo viral de un grupo de pacientes infectados por el virus HIV-1, candidatos al tratamiento con el fármaco en estudio.

El fármaco, un antagonista de los receptores de quimiocinas, pertenece a una nueva familia de fármacos que ha pasado a formar parte del arsenal terapéutico de la infección por HIV. La actuación se produce a nivel de la entrada viral, la interacción del receptor celular CD4 y la glicoproteína gp120 provoca cambios conformacionales en la envuelta viral que permiten la interacción del complejo CD4-gp120 con un receptor de quimiocinas, principalmente CCR5 o CXCR4, que ocurre principalmente a través de la región V3 de la envuelta.

Los pacientes incluidos en el estudio pertenecen a la unidad de Enfermedades Infecciosas del Hospital General de L Hospitalet. Como criterios de inclusión se establecieron: pacientes infectados con virus HIV-1, con fallo en el tratamiento con otros antirretrovirales y cuyas cargas virales fuesen superiores a 1000 copias/mL.

## Método

El método utilizado para la determinación del tropismo es el ensayo fenotípico Trofile, que identifica pacientes respondedores o no al tratamiento con antagonistas de CCR5. Pertenecen en el grupo de métodos basados en la generación de virus recombinantes de ciclo único. Inicialmente se realiza la amplificación de la región V3 del gen de la envuelta viral a partir del plasma del paciente y mediante técnicas de clonaje o recombinación genética se generan virus quiméricos o pseudotipos que portan la envuelta del paciente. Estos virus son utilizados para infectar líneas celulares que expresan el receptor CD4 y uno de los dos correceptores principales del HIV, CCR5 o CXCR4. De esta manera, se define el tropismo viral conferido por la envuelta del paciente estudiado a partir del comportamiento del virus recombinante.

## RESULTADOS:

Los resultados de los análisis se informaron como Tropismo R5 , Tropismo X4 Tropismo dual o no reportable .

En el estudio se han incluido 33 paciente. De los resultados obtenidos destaca la respuesta mayoritaria Tropismo R5.

## Conclusión

Aunque se puso de manifiesto el alto porcentaje de candidatos a recibir el tratamiento con el fármaco en estudio, el tratamiento o no, se determinó en sí por otra serie de factores, tales como efectos secundarios, estado actual del paciente o coste del tratamiento. El hecho que sí quedo demostrado en el estudio es el alto porcentaje de pacientes con tropismo R5.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 271

## PATRÓN ESTACIONAL Y DISTRIBUCION POR EDADES DEL VIRUS RESPIRATORIO SINCITAL EN EL ÁREA ASISTENCIAL DEL HOSPITAL DEL TAJO

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Elena García García, Cristina García Guzmán, Teresa Figueroa Montesinos, Lorena Benitez Hernández, Lorena Roldán Muelas, Alicia Teresa Pelaez Muñoz, Cristina Salvador Amuedo

Centro de trabajo: Hospital del Tajo (Aranjuez)

Servicio: Laboratorio de Urgencias BR Salud

Correo electrónico del primer firmante: elegarciagarcia@hotmail.com

## INTRODUCCIÓN

El virus respiratorio sincital (VRS). Es un virus perteneciente a la familia Paramyxoviridae. Es el agente viral más común causante de enfermedad del tracto respiratorio inferior en la infancia. Afecta principalmente a niños durante el primer año de vida pudiendo provocar bronquiolitis y neumonías. Es de distribución mundial y la incidencia de infección se caracteriza por presentar picos estacionales.

## Objetivo:

Establecer el patrón estacional y distribución por edades del virus respiratorio sincital en las muestras obtenidas durante el periodo comprendido entre el 1 de Enero de 2010 y el 31 de Enero de 2011 en el área asistencial del hospital de Tajo.

## MATERIAL Y MÉTODO

Se realizaron un total de 279 determinaciones de antígeno de virus respiratorio sincital. Se analizaron muestras de lavados nasofaríngeos recogidas en recipiente estéril sin medio de transporte, procedentes en su mayoría de los servicios de Neonatología, Lactantes y Pediatría.

La técnica utilizada es un ensayo inmunocromatográfico de membrana in Vitro. Consiste en una prueba rápida y cualitativa que detecta el antígeno, realizada según instrucciones del fabricante (Binax Now® VRS-Leti laboratorios).

## RESULTADOS:

Del total de muestras estudiadas (279), 99 fueron positivas y 180 negativas para virus respiratorio sincital. Su distribución estacional y por edades se refleja en la siguiente tabla:

MESES	TOTAL	TOTAL POSITIVAS	TOTAL NEGATIVAS	MENORES 1 AÑO	MAYORES 1 AÑO
ENERO	44	26	18	25	1
FEBRERO	14	5	9	3	2
MARZO	13	1	12	1	0
ABRIL	7	1	6	1	0
MAYO	4	0	4	0	0
JUNIO	5	0	5	0	0
JULIO	4	0	4	0	0
AGOSTO	2	0	2	0	0
SEPTIEMBRE	9	1	8	1	0



OCTUBRE	8	0	8	0	0
NOVIEMBRE	14	1	13	1	0
DICIEMBRE	71	29	42	16	13
ENERO	84	35	49	31	4

## CONCLUSIONES:

La tasa de positividad que se obtiene en las pruebas de detección del virus respiratorio sincitial varía en función de la época del año. Los valores más elevados se obtienen en los meses de invierno, de Noviembre a Marzo, a partir del cual se aprecia un descenso progresivo hasta el mes de Octubre donde los resultados positivos comienzan a incrementarse.

Las tasas más altas de enfermedad ocurren en la edad infantil, siendo su mayor incidencia en niños menores de un año.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 272

## INCIDENCIA DE GRIPE A (H1N1) EN LA PROVINCIA DE JAÉN

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Rosario M<sup>a</sup> Contreras López, M<sup>a</sup> Dolores Mesa Anguita, Manuela Escobar Conde, Lucía Bueno Alba, Manuela Rodríguez Orduña, Inocente Cuesta Lendínez.

*Centro de trabajo:* UGC-Microbiología. C.H. Jaén.

*Correo electrónico del primer firmante:* mjcstellano@telefonica.net

## Introducción:

La Gripe es una enfermedad transmisible de declaración nacional obligatoria numérica, de presentación invernal y recurrencia epidémica periódica. Los virus de la gripe son virus respiratorios ARN pertenecientes a la familia Orthomyxoviridae. Existen 3 serotipos principales A,B y C pero solamente los virus A y B producen enfermedad importante en el hombre.

Presentan como característica especial su variabilidad biológica, la cual es responsable de los brotes anuales de gripe, de epidemias y pandemias.

La pandemia de gripe A (H1N1) ocurrida mundialmente e iniciada en España en Abril de 2009 determinó que en nuestro Laboratorio se realizaran las determinaciones para el diagnóstico de esta enfermedad.

## Objetivos:

Determinar la incidencia de Gripe A (H1N1) en la provincia de Jaén durante el periodo Octubre 2009-Febrero 2010.

## MATERIAL Y METODOS:

Durante el periodo de estudio, en pacientes con clínica compatible de toda la provincia de Jaén y siguiendo las recomendaciones y protocolos elaborados por el Servicio Andaluz de Salud para el diagnóstico de Gripe A H1N1, se recogieron 587 muestras respiratorias (ex. nasales y ex. faríngeos) utilizando para ello el medio de transporte de virus (UTM Copan®). Estas muestras se remitieron al laboratorio siguiendo las normas para el transporte de sustancias infecciosas (Categoría B, UN 3373).

Para el diagnóstico, se realizó una extracción automatizada del ARN viral mediante el Biorobot (EZ1 Qiagen) y posteriormente se realizó una RT-PCR con Smarth Cycler (Cepheid) utilizando los reactivos ProFlu-ST (Prodesse) que detectan virus Influenza A H1 variedad porcina, H1 variedad estacional y H3 variedad estacional.

## RESULTADOS:

Del total de las 587 muestras analizadas (348 procedentes de mujeres y 239 de varones), 147 fueron positivas (25,04%) para el virus H1N1v, detectándose ARN viral en 108 mujeres y 39 varones. Todas las muestras fueron negativas para el virus de la gripe H1 y H3 estacional.

Durante el periodo estudiado se registró un máximo de positividad en el mes de noviembre con un 54,42% y un mínimo en enero con 1,36%, no detectándose ya casos en el mes de febrero.

Existió mayor incidencia en niños menores de 14 años (39,4%).

## CONCLUSIONES:

Durante el periodo epidémico estudiado el virus Influenza A H1N1v reemplazó por completo a otros virus gripales.

Se constató una mayor incidencia en niños.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 288

## PREVALENCIA DEL S. AUREUS METICILIN RESISTENTE EN LA POBLACION RESIDENTE DE LA COMARCA DE TOMELLOSO

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Lomas López, Francisca; Tebar Salazar, Julian Navarro Plaza, Ana Flor; Merino Lomas, María José; Serrano Fernández, María Inés.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL GENERAL DE TOMELLOSO

*Provincia:* Ciudad real

*Correo electrónico del primer firmante:* asusta68@hotmail.com

## INTRODUCCION:

MRSA como problema epidemiológico global, cada vez más asociado a instituciones sanitarias.

## Objetivos:

Evaluar la incidencia de nuevos casos de MRSA en el Hospital General de Tomelloso durante el año 2010, haciendo hincapié en la procedencia de los pacientes, especialmente aquellos que vienen de instituciones sanitarias.

## MATERIAL Y METODOS:

Se realiza despitaje de MRSA según protocolo del servicio de epidemiología a los siguientes pacientes:

– Pacientes con más de veinte días de ingreso.

– Pacientes que provienen de instituciones.

Despitaje en Exudado Faríngeo, Exudado Nasal, Exudado Perineal, Exudado Axilar y en Herida, con medio cromogénico para el cribado de SARM (Agar chromIDTM MRSA).

Incubación 24 horas a 37° C.

Resultado POSITIVO: colonias de color verde, coagulasa positiva.

## RESULTADOS:

167 Pacientes estudiados sin despitaje previo en 2010, de los cuales 47 (28.14% - IC 95% 21% a 35%) resultaron positivos. De estos 47, al menos 19 (40.42% - IC 95% 26% a 54%) provenían de 7 residencias del entorno.

## CONCLUSIONES:

Incidencia de pacientes colonizados por MRSA en nuestro hospital es alta (28% de todos los despitajes realizados durante 2010).

De estos pacientes, un tanto por ciento elevado (40%) provienen de instituciones sanitarias (residencias), lo que indica la importancia de éstas como reservorio de la colonización por MRSA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 289

## CRIBADO INFECCIÓN POR HTLV I-II EN EMBARAZADAS

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Montserrat Aznar Santos, Raquel Moreno Rámirez, Francisco Jesús Torralba Saban,

M<sup>a</sup> Elena García Estivill, Susana Bernalte Ruz.

*Centro de trabajo:* HOSPITAL VALLE DE HEBRON

*Correo electrónico del primer firmante:* maznar67@hotmail.com

## Introducción:

Los virus de la leucemia de células T humanas (HTLV, en sus siglas en inglés) pertenecen a la familia de los retrovirus, la misma que el virus HIV y fueron descubiertos antes que éste. Existen dos tipos, HTLV-I y HTLV-II y su distribución no es universal ya que se localizan principalmente en África, Caribe, determinadas zonas de América y Japón. El aumento de la inmigración ha hecho que se describan casos de infección fuera de las áreas endémicas. En nuestro país, la infección por HTLV-I afecta fundamentalmente al colectivo de inmigrantes y a sujetos nativos que han vivido o mantienen relaciones con individuos de zonas endémicas para este virus. Dicha infección es asintomática en el 95% de los casos y tan solo en el 5 % restante produce clínica después de un periodo prolongado de tiempo, usualmente años. Las enfermedades asociadas a este virus son la paraparesia espástica tropical y la leucemia de células T del adulto. La infección por HTLV-II produce enfermedad con una frecuencia mucho más baja y en nuestro país, y de forma similar en Italia, parece haberse introducido entre los adictos a drogas por vía parenteral (ADVP), la mayoría de ellos coinfectados por HIV. La infección de ambos virus se puede transmitir de madre a hijo, siendo la lactancia materna la principal fuente de infección.

En los últimos años España ha registrado un fuerte flujo migratorio procedente de países donde la infección por HTLV-1 es endémica. La inmigración ha incidido a su vez en un incremento del índice de natalidad.. En el año 2002, el 10,5% de los nacimientos en España correspondieron a madres extranjeras, cuando la población inmigrante apenas representaba el 4% del total.

## Objetivos:

Conocer la prevalencia actual de la infección por HTLV-1 en embarazadas junto con el factor de riesgo (en este caso la procedencia de zona endémica) podría contribuir a conocer la situación real de la infección en el este colectivo y recomendar la instauración de posibles medidas profilácticas (diagnóstico precoz durante el embarazo para evitar la lactancia materna).

## Material y métodos:

Sueros de todas las embarazadas atendidas en el Área Maternal del Hospital Vall d Hebron de Barcelona desde 1 mayo de 2006 al 31 de diciembre de 2007. Se recogió el país de procedencia y la edad.

La determinación de anticuerpos anti HTLV en suero se realizó mediante técnica de enzaimunoensayo (EIA) y los sueros con resultado positivo se confirmaron mediante técnica de inmunoensayo en línea con péptidos sintéticos (LIA).

#### RESULTADOS:

Se han analizado 1876 muestras.

Han sido positivas por EIA 5 muestras.

Se han confirmado como positivas dos muestra, de las cuales una es HTLV-I y la otra HTLV-II.

#### CONCLUSIONES:

Tan sólo se detectaron un caso de infección por HTLV-1, sin que ninguna embarazada española estuviese infectada. Estos resultados no justifican actualmente el cribado universal de la infección por HTLV-1 en gestantes en España, aunque podría estar recomendado en aquellas embarazadas procedentes de zonas endémicas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 290

### DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-PSEUDOMONA AERUGINOSA EN POBLACIÓN COMPRENDIDA DE 0 A 18 AÑOS CON FIBROSIS QUISTICA.

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Raquel Moreno Rámirez, Francisco Jesús Torralba Saban, M<sup>a</sup> Elena García Estivill, Montserrat Aznar Santos, Josep Vugué Collado

*Centro de trabajo:* Hospital Valle de Hebron

*Provincia:* Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* ramora68@hotmail.com

#### Introducción:

El diagnóstico de la infección crónica por *Pseudomonas aeruginosa*, en los pacientes afectados por fibrosis quística se realiza actualmente mediante cultivos de esputo obtenidos periódicamente. El aislamiento continuado de *Pseudomonas aeruginosa* en el cultivo de esputo es en la mayoría de los casos un marcador tardío y sería de gran utilidad para un diagnóstico precoz, la investigación de anticuerpos anti-*Pseudomonas aeruginosa*, sobre todo en el caso de niños pequeños que tienen dificultad para expectorar.

#### Objetivos:

Valorar mediante una técnica de ELISA la detección de Ac frente 3 Antígenos diferentes: Proteasa alcalina (PA), Elastasa (ELA) y Exoproteína (EXO) en *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes con Fibrosis Quística.

#### MATERIAL Y MÉTODO

– Suero de 110 pacientes (nº niños afectados por Fibrosis Quística FQ) con edades comprendidas entre 0-18 años.

– La técnica elegida es un ELISA de 96 determinaciones de la marca BIOTEST, *Pseudomonas aeruginosa* IgG. Distribuida por IZASA con referencia 21400.

#### RESULTADOS:

Los 110 pacientes los dividimos en cinco grupos con estos criterios:

1.–Nunca: nunca infectados por *Pseudomonas aeruginosa* (19).

2.–1º Infección: Se aísla una única vez *Pseudomonas aeruginosa* (22).

3.–Intermitentemente 1: Se aísla alguna vez *Pseudomonas aeruginosa* (44).

4.–Intermitente 2: Se aísla más de una vez *Pseudomonas aeruginosa* (17).

5.–Cronicos: Infectados por *Pseudomonas aeruginosa* (8).

Los pacientes de los grupos de nunca o una primera infección o no tienen anticuerpos (83%) o sólo frente a un único antígeno (14%).

Los pacientes de los grupos intermitente 1 y 2 tienen resultados variables pero sólo un 23% de ellos presentan anticuerpos frente a 2 o 3 de los antígenos estudiados.

Los pacientes crónicos son positivos a 2 o 3 de los antígenos estudiados en el 100%.

#### CONCLUSIÓN

– La detección de anticuerpos frente a *Pseudomonas aeruginosa* es capaz de diferenciar entre los distintos grupos cuando se considera como positiva la presencia de anticuerpos frente a más de 1 antígeno.

– Así mismo el título de anticuerpos permite diferenciar entre los diferentes grupos analizados.

– La detección de anticuerpos es un buen complemento del cultivo convencional y aporta información complementaria que puede ser útil para la toma de decisiones terapéuticas.

Estudio financiado con una beca de la Asociación de Fibrosis Quística de Cataluña.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 294

### PUESTA A PUNTO DE UNA HERRAMIENTA PARA DETECTAR REPLICACIÓN RESIDUAL DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA DE TIPO 1 (VIH-1)

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* María Coronel Díaz, Ester Domínguez García, Carmen Page Alonso y Nadia Madrid Elena

*Centro de trabajo:* Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Ramón y Cajal (Madrid).

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

#### Introducción:

La introducción de los tratamientos antirretrovirales de gran actividad (TARGA), mediante la combinación de tres fármacos, supuso un cambio dramático en la historia natural de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (VIH-1), ya que con ello se ha conseguido la supresión de la viremia detectable por técnicas convencionales. Esto lleva asociados beneficios clínicos innegables, pero no significa que se haya suprimido por completo la replicación del virus. El principal obstáculo para la erradicación del VIH-1, una de las líneas de investigación en nuestro laboratorio, es la existencia de un reservorio de células latentemente infectadas. En la actualidad, no existe ninguna técnica de laboratorio en la rutina asistencial que detecte niveles de replicación residual, por debajo de 50 copias/mL. Una de las técnicas desarrollada con fines de investigación que nos permitiría medir la replicación residual es la detección, en el núcleo de la célula, del ADN extracromosómico circular con 2 repeticiones terminales largas (Abr. LTR, del inglés long terminal repeat), intermediario de replicación del virus.

#### Objetivo:

Puesta a punto de la detección de ADN extracromosómico circular con 2-LTRs como herramienta para monitorizar estrategias de erradicación del VIH-1.

#### Materiales y métodos:

El ADN extracromosómico circular con 2-LTRs se obtuvo de células mononucleares de sangre periférica (PBMCs). Empleamos como controles positivos muestras de archivo de pacientes con carga viral detectable por técnicas de rutina. Para la detección de ADN extracromosómico circular con 2-LTRs diseñamos una PCR-anidada (PCR, del inglés Polymerase chain reaction) cuyo fragmento amplificado final comprendiera la región de unión de los 2-LTRs y diferenciarlo así de otros intermediarios de replicación. Se probaron varias parejas de iniciadores, descritos previamente, en las dos rondas de amplificación. Las modificaciones, tanto de las parejas de iniciadores de cada ronda de la PCR-anidada como de las condiciones de amplificación se realizaron secuencialmente, variando en cada experimento uno de los parámetros, y utilizando las condiciones óptimas obtenidas en posteriores experimentos. Los productos amplificados se separaron mediante electroforesis en gel de agarosa teñido con GelRed (Biotium, Hayward, CA, EEUU) y se visualizaron bajo luz ultravioleta (UV).

#### RESULTADOS:

Para obtener la mayor concentración de ADN extracromosómico circular con 2-LTRs, presente en baja proporción en las células infectadas por el virus, usamos una modificación, descrita por otros autores, del kit QIAprep Spin Miniprep (Qiagen, Valencia, CA, EEUU), la cual nos permite extraer ADN de bajo peso molecular y eliminar ADN de alto peso molecular como es el ADN genómico celular. Tanto para la primera como para la segunda ronda de PCR, se probaron varias temperaturas de hibridación así como varias parejas de iniciadores. Una vez obtuvimos el fragmento de la primera ronda (~6 Kb) y para aumentar la especificidad y optimizar la temperatura de hibridación de los iniciadores de la segunda ronda, realizamos una PCR-touchdown. Usando los controles positivos (pacientes infectados por el virus con carga viral elevada), se escogió la mejor pareja de iniciadores en la primera y segunda ronda, aquellas con las que se detectaron bandas en el gel de agarosa y el tamaño de las mismas era el esperado. Una vez optimizada la PCR-anidada, fue aplicada en muestras de pacientes infectados por el virus con carga viral indetectable, siempre empleando un control positivo en cada reacción.

#### CONCLUSIONES:

Se ha conseguido optimizar una herramienta de amplificación sensible, económica y fiable para detectar ADN extracromosómico circular con 2-LTRs en muestras de pacientes infectados por el VIH-1 con carga viral indetectable, a pesar de la baja proporción en la que se encuentran estas formas de ADN dentro de la célula infectada. Este método de detección de ADN extracromosómico circular con 2-LTRs puede ser utilizado como marcador de replicación reciente y proporcionaría una herramienta útil en los estudios de erradicación de VIH-1.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 296

### EPIDEMIOLOGÍA Y SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS SEROTIPOS DE STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE AISLADOS EN EL ÁREA SANITARIA DEL HOSPITAL COMARCAL DE MELILLA

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* M<sup>a</sup> Elena Ruiz Ortega, Rocío Tejero García, Manuel Causse del Río, Elena Lozano Guerra, M<sup>a</sup> Lourdes Tenorio Camino, Margarita Novella Gómez, M<sup>a</sup> Luisa Rodríguez Camacho, Carmen Rosa Haddu.

*Centro de trabajo:* Hospital Comarcal del INGESA de Melilla

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

#### Introducción:

*Streptococcus pneumoniae* es causa importante de otitis media aguda, neumonía, bacteriemia y meningitis. Existen unos 90 serotipos de neumococos, aunque sólo un grupo reducido produce la mayoría de las infecciones.

## Objetivos:

Identificar los serotipos de *Streptococcus pneumoniae*, la sensibilidad antimicrobiana, así como estudio epidemiológico de la población afectada por este microorganismo en el Área Sanitaria del Hospital Comarcal de Melilla.

## Material y métodos:

Se han estudiado los aislamientos de *Streptococcus pneumoniae* en el Área Sanitaria de Melilla, en el periodo de dos años (2009-2010), siguiendo el protocolo y el procedimiento habitual del laboratorio. Los microorganismos son identificados, por la prueba de optoquína y un latex de aglutinación, la sensibilidad antimicrobiana, mediante disco-placa y el serotipo según Centro de Referencia. Los datos estadísticos fueron analizados en el programa SPSS versión 15.0.

## RESULTADOS:

Se aislaron 27 cepas correspondiendo a uno por paciente. La población de estudio estaba constituida por 7(23,3%) mujeres y 20(66,7%) hombres, de origen árabe 17(56,7%), de origen caucásico 6(20%) y otros orígenes 4(13,3%). La media de edad era de  $38,5 \pm 30$  años (rango entre 2 meses de vida a 91 años), la mediana de 43 años. Se distribuyen en 15(50%) casos en el 2009, 12(40%) en el año 2010. Los meses más frecuentes fueron 5(16,7%) en el mes de mayo y 4(13,3%) en junio. Procedentes de Consultas 10(33,3%), de Centros de Salud 7(26%) y de Urgencias 3(10%), necesitando ingreso 11(36,7%), 2(6,7%) en UCI. Las muestras más frecuentes de donde procedían los aislados eran 6(20%) de esputo, 5(16,7%) de frotis conjuntival, 3(10%) de sangre y 6(20%) de líquidos estériles. Los serotipos más frecuentes eran 5(16,7%) de serotipo 3, 4(13,3%) del serotipo 19A, 2(6,7%) del serotipo 35B y del 34. En cuanto a la sensibilidad antimicrobiana se obtiene a penicilina 19(63,3%), a tetraciclina 21(70%), eritromicina 23(76,7%), a cefotaxima 23(76,7%), a amoxicilina 23(76,7%) a levofloxacino 27(100%) y a vancomicina 27(100%).

## CONCLUSIONES:

El 36,7% de los casos requieren ingreso hospitalario. Los serotipos más frecuentes son el 3 y el 19A, asociados a mayor gravedad de los cuadros clínicos. Se mantiene una buena sensibilidad antimicrobiana frente a los antibióticos usados comúnmente.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 297

## ESTUDIO GENÉTICO-MOLECULAR DE PAPILOMAVIRUS HUMANO Y CORRELACIÓN ANATOMOPATOLÓGICA EN EL ÁREA SANITARIA DE MELILLA

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* M<sup>a</sup> Elena Ruiz Ortega, Rocío Tejero García, M<sup>a</sup> José Domínguez Lomeña, Elena Lozano Guerra, Víctor Manuel Sánchez Bueno, Margarita Novella Gómez, M<sup>a</sup> Lourdes Tenorio Camino, Amparo Ruiz Ferri.

*Centro de trabajo:* Hospital Comarcal del INGESA de Melilla

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

## Introducción:

El papilomavirus humano (PVH), es un virus ADN de doble cadena con tropismo por el epitelio escamoso cutáneo o mucoso. Es evidente su relación con el cáncer de cuello uterino, considerándose una secuela a largo plazo de una infección adquirida por vía sexual.

## Objetivos:

Identificar los tipos de papilomavirus humano en el Área Sanitaria de Melilla, evaluar la relación entre tipo de PVH y resultado de la citología y/o biopsia de las muestras de las pacientes así como estudio epidemiológico de la población afectada por esta infección vírica.

## Material y métodos:

Se realiza un estudio descriptivo retrospectivo de las muestras recogidas para estudio del tipo de PVH durante los años 2004 al 2010, en el Área Sanitaria de Melilla, procedentes de la consulta de Ginecología y del Centro de Orientación Familiar. Se revisan los resultados de la citología y/o biopsia de las muestras positivas. Se sigue el protocolo del laboratorio para recogida de muestras del estudio de PVH. Los tipos de PVH son identificados por Centro de Referencia, utilizando la reacción en cadena de la polimerasa y la hibridación inversa, que incluye la identificación de 37 tipos de PVH. Los datos fueron analizados en el programa SPSS versión 15.0.

## RESULTADOS:

En este periodo se analizaron 56 muestras positivas procedentes de mujeres con una media de edad de  $35,41 \pm 9,7$  años (rango entre 22 - 63 años), la mediana de 35 años. De origen árabe 14(25%), de origen caucásico 40(71,4%) y otros orígenes 2(3,6%). En 5(8,9%) casos no fue tipable el PVH, de los 51(91,1%) casos que fueron tipados, eran de alto riesgo 41(73,2%), de probable alto riesgo 4(7,1%), de bajo riesgo 6(10,7%), en 12(21,4%) casos hubo coinfección con otros tipos de PVH. Del grupo de alto riesgo los tipos más frecuentes fueron el tipo 16 en 19(13,9%) casos, el 18 en 6(4,4%) casos y el 31 en 5(3,7%) casos y de probable alto riesgo, el tipo 66 en 2(0,1%) casos y del 73 y 53 un caso de cada. De los de bajo riesgo los que predominaban eran el tipo 6 en 5(0,6%) y el 72 en un caso. La relación de la infección con la citología fue la siguiente: de las 41 pacientes con tipos de alto riesgo, 13(11%) presentaban displasia leve o lesión escamosa intraepitelial de bajo grado o CIN I, en 7(7,3%) casos atipias celulares de significado incierto (ASCUS), carcinoma in situ en 6(5,1%) casos y en 3(2,2%) casos un carcinoma infiltrante. De los 4 casos de probable alto

riesgo, 2(1,1%) presentaban displasia leve o lesión escamosa intraepitelial de bajo grado o CIN I, en las 6 pacientes con tipos de bajo riesgo presentaban en 2(1,1%) casos ASCUS. Presentaban coinfección en el momento de la citología 8(14,3%) pacientes con micosis en 3(5,4%) casos y con vaginosis bacteriana en 5(8,9%) casos.

## CONCLUSIONES:

Los tipos 16 y 18 son los que se detectan con mayor frecuencia en esta área Sanitaria. Existiendo una importante relación entre los tipos de PVH y las displasias graves, tal y como se describe en la literatura. La determinación del tipo de PVH implica una clave información para el clínico sobre la estratificación del riesgo de progresión de las infecciones por PVH, permitiendo nuevas estrategias para la prevención primaria y secundaria.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 298

## LA INFECCIÓN DEL PAPILOMAVIRUS HUMANO EN DOS ÁREAS GEOGRÁFICAS DIFERENTES: DIFERENCIAS EPIDEMIOLÓGICAS.

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* M<sup>a</sup> Elena Ruiz Ortega, Rocío Tejero García, Francisco Franco Álvarez de Luna, Elena Lozano Guerra, Ana Duque Calero, José Herminio García Vela, Margarita Novella Gómez, M<sup>a</sup> Lourdes Tenorio Camino.

*Centro de trabajo:* Hospital Comarcal de Melilla y Hospital de Riotinto

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

## Introducción:

El virus del papiloma humano (VPH), es un virus ADN de doble cadena con una clara relación con el cáncer de cuello de útero por su tropismo por el epitelio escamoso cutáneo o mucoso.

## Objetivos:

Identificar los tipos de VPH presentes en las lesiones descritas en la citología y/o biopsia de cuello uterino de dos áreas geográficas y poblacionales diferentes. Así como evaluar las diferencias epidemiológicas.

## Material y métodos:

Se realiza un estudio descriptivo retrospectivo de las citologías realizadas durante el año 2008 procedentes de la consulta de Ginecología del Área Sanitaria Norte de la provincia de Huelva (HRT) y de las citologías realizadas durante los años 2008-2010 procedentes de la consulta de Ginecología y del Centro de Orientación Familiar del Área Sanitaria de Melilla (HCM). El método de cribado para la detección de VPH se realizó mediante la hibridación con sondas de captura (Digene HC2®) y el genotipado se realizó con Linear Array HPV (Roche®). 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: Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (LSIL), lesión escamosa intraepitelial de alto grado (HSIL) y atipias celulares de significado incierto (ASCUS). Se seleccionaron las muestras procedentes de pacientes con lesión y detección de VPH. Los datos fueron analizados en el programa SPSS ® versión 15.0.

## RESULTADOS:

Se analizaron en total, 78 muestras positivas, se distribuyen según el hospital en: HRT: 38 muestras procedentes de pacientes con un promedio de edad de 36 años, (rango entre 17 - 50 años). Los resultados de la citología fueron los siguientes: 23 (60,5%) LSIL, 11 (28,9%) ASCUS, 4 (10,5%) HSIL. La media de edad según el tipo de lesión fue de 34 años para ASCUS, 33 años para LSIL y 33 años para HSIL. La frecuencia de lesiones con un sólo tipo fue de 12 (31,6%) y en 26 (68,4%) se detectaron varios tipos. La frecuencia de tipos según la lesión fue la siguiente: en el ASCUS los tipos más frecuentemente detectados fueron 16, 58, 31, 51, 68 y 53. En el LSIL, 16, 31, 56, 53, 52 y 39. En el HSIL 16 y 51.

HCM: 40 muestras procedentes de pacientes con un promedio de edad de 35 años, (rango entre 22 - 53 años). Los resultados de la citología fueron los siguientes: 13 (32,5%) LSIL, 5 (12,5%) ASCUS, 4(10%) carcinoma in situ, 2(5%) carcinoma infiltrante, 2(5%) HSIL. La media de edad según el tipo de lesión fue de 29 años para ASCUS, 35 años para LSIL, 40 años para carcinoma in situ, 49 para carcinoma infiltrante y 30 años para HSIL. La frecuencia de lesiones con un sólo tipo fue de 30 (75%) y en 10 (25%) se detectaron varios tipos. La frecuencia de tipos según la lesión fue la siguiente: en el ASCUS los tipos más frecuentemente detectados fueron 6, 18. En el LSIL, 66, 16, 6, 31, 33y 73. En el HSIL, 35 Y 51. En el carcinoma infiltrante, 16 y 18. En el carcinoma in situ 16 y 6.

## CONCLUSIONES:

Los tipos 16 y 31 son los que se detectan con una mayor frecuencia en el Área Sanitaria del HRT, con un 68% de detección de varios tipos de VPH en la misma muestra y en el Área Sanitaria del HCM destacan el 16, 6, 18 y 31 y sólo en un 25% se detectaron varios tipos en la misma muestra. El promedio de edad de la población infectada por el VPH es similar en ambas Áreas Sanitarias. Destacamos la presencia de lesiones citológicas más graves en el Área Sanitaria del HCM, posiblemente por el mayor aislamiento de tipos de VPH de alto riesgo respecto a las muestras del Área Sanitaria del HRT.

**MICROORGANISMOS AISLADOS EN LA UCI DEL HOSPITAL DE VALME**

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* LEONARDO JESÚS ISNARD CARO, MARIBEL GARCÍA JIMÉNEZ, PILAR MORALES GALÁN ESTRELLA MARTÍN-MAZUELOS

*Centro de trabajo:* H.U. VALME (SEVILLA)

*Correo electrónico del primer firmante:* leois2010@hotmail.com

**Objetivos:**

Estudio retrospectivo de las muestras procedentes de UCI, para conocer cuáles son los microorganismos más frecuentes aislados en las infecciones y/o colonizaciones que afectan a esta unidad.

**Material y métodos:**

Muestras recibidas en nuestro laboratorio desde (Enero 2010-Diciembre 2010).

Analizamos 1.288 muestras, de las cuales 199 de origen respiratorio (15,4%), (161 aspirados bronquiales, 22 esputos, 12 ex. nasales y 4 lavados broncoalveolares), 73 fueron exudados (5,6 %), (34 de heridas quirúrgica, 13 de herida no quirúrgica, 11 axilares, 8 inguinales y 7 rectales); 89 líquidos estériles (6,9 %), (30 peritoneales, 29 pleurales, 18 LCR, 7 biliares y 5 pericárdicos); 671 hemocultivos (52,1 %); 124 orinas (9,6%); 69 catéteres (5,3 %) ; 39 heces (3,1 %) y 24 controles biológicos (1,8 %).

Las muestras se procesaron según el protocolo de trabajo de nuestro laboratorio y los aislamientos se identificaron mediante VITEK -2 System (bioMérieux, España) y MICROSCAN WalkAway 96 (Siemens, España).

**RESULTADOS:**

De las muestras analizadas, se aislaron un total de 561 (43,5%) microorganismos, de los cuales los más frecuentes eran: 171 (30,5 %) levaduras de género *Candida* (121 *C. albicans*, 21 *C. Tropicalis*, 15 *C. Krusei* y 10 *C. Glabrata*); 118 (21,3%) bacilos Gram negativos (61 *Pseudomonas aeruginosa* y 57 *Escherichia coli*) y 93 cocos Gram positivos (38 *Enterococcus faecalis*, 35 *Staphylococcus aureus* y 20 *Staphylococcus epidermidis*). Es importante tener en cuenta que el alto número de aislamientos del género *Candida*, es debido a un estudio de colonización que se hace a los pacientes ingresados en UCI para poder predecir la posible adquisición de candidiasis invasiva.

**CONCLUSIONES:**

1-Las levaduras son el microorganismo aislado con más frecuencia en la UCI de nuestro hospital aunque la mayoría de ellas esté colonizando.

2-Los bacilos Gram negativos son los segundos microorganismos en frecuencia, repartiéndose entre dos especies (*Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*).

**BRONQUIOLITIS POR VIRUS RESPIRATORIO SINCITAL EN LA SERRANÍA DE RONDA.**

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* FRANCISCA FLORIDO GOMEZ, ISABEL MARIA PECINO FRIAS, MANUEL ROMERO MENA, AGUSTIN RUBIRA TOBARUELA, FRANCISCO JAVIER MERIDA DE LA TORRE

*Centro de trabajo:* AREA SANITARIA LA SERRANIA

*Correo electrónico del primer firmante:* paquiflo@terra.es

**INTRODUCCION:**

La bronquiolitis aguda es la infección del trato respiratorio inferior más frecuente en el lactante. Tiene una incidencia anual de un 10% y una tasa de ingresos hospitalarios entre un 2 y un 5%. El método de detección en laboratorio se lleva a cabo en muestras nasofaríngeas, obtenida después de un lavado nasal, con técnicas inmunocromatográficas de membrana, utilizadas para detectar el antígeno del VRS.

Existe una profilaxis con anticuerpos monoclonales (Palivizumad) que se utiliza en prematuros de menos de 35 semanas de gestación, para prevenir la infección por VRS.

**Objetivos:**

Identificar ingresos hospitalarios, por enfermedad respiratoria en nuestro Hospital de referencia, y ver cuales son por VRS y porcentaje de afectados en los distintos tramos de edad. Comprobar la eficacia de la profilaxis con Palivizumad.

**MATERIAL Y METODOS:**

Estudio descriptivo en Población menor de 2 años de nuestras zonas de influencia (Área sanitaria la Serranía y Sierra de Cádiz).

Identificación del nº de ingresos, causa y edad, además de comprobar si recibieron profilaxis para prevenir la bronquiolitis por VRS+, en nuestro Hospital de referencia.

Los datos requeridos se han obtenido de diferentes fuentes (Instituto andaluz de Estadística, listado de niños que han recibido profilaxis con anticuerpos monoclonales, listado de altas hospitalarias).

Se han seguido las normas éticas en investigación (código Helsinki)

**RESULTADOS:**

De 3225 niños menores de 2 años nacidos desde Enero de 2009, 52 fueron prematuros, y 37 con menos de 35 semanas de gestación.

El total de ingresos en los 2 últimos años en nuestro Hospital de referencia fue de 658 niños, de los cuales 253 fueron menores de 2 años. El 38% de los menores de 2 años tuvo causa respiratoria, el 54% fue bronquiolitis, de las cuales el 60,3% fue VRS+ con menos de 1 año de edad al ingreso

**CONCLUSIONES:**

Tomando como referencia los datos obtenidos en nuestra zona de estudio y teniendo en cuenta la tendencia general podemos concluir:

La tendencia de ingresos, hospitalarios por VRS+ se sitúa en el 4,5%, bastante similar al resto del país.

Resaltar que todos los niños que resultaron VRS+ tenían menos de 1 año al ingreso.

Tras entrevista directa con los padres, ningún niño de los que han recibido profilaxis en estos 2 últimos años han presentado bronquiolitis por el VRS de cualquier gravedad, por lo que consideramos bastante eficiente la profilaxis con Palivizumad.

**INCIDENCIAS EN LA RECOGIDA DE MUESTRAS**

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Carmen María Jorge Rodríguez, Dessirée Bethencourt Aguilar, Aitami Acosta Alfaro, Carmen Rosa Siverio Medina, Nuria Esther Rodríguez Álvarez, Yurena Marrero Alvares, María Lecuona Fernandez.

*Centro de trabajo:* Centro Hospitalario Universitario de Canarias

*Provincia:* Santa Cruz de Tenerife

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

**INTRODUCCION:**

Estudio de las consecuencias de una muestra mal tomada o mal enviada, por parte del personal de enfermería, que debe conocer el protocolo de conservación de la muestra, para asegurar una viabilidad de los microorganismos desde la toma hasta su llegada al Servicio de microbiología del HUC. La importancia del conocimiento del protocolo para el TEL que recibe dichas muestras para tener claro el criterio de aceptación y rechazo de las muestras y la toma de decisiones.

**MATERIAL Y METODOS:**

Se ha realizado un análisis de las incidencias desde el 1 de marzo hasta el 13 de diciembre de 2010, en total 286 incidencias. Un TEL del servicio de microbiología acude a recoger las muestras que se hayan depositado el día anterior desde las 19 horas hasta las 8 de la mañana de ese día, en los puntos dotados de estufa (37°C) y frigorífico (4°C): El 62,5% (179) de las muestras no conformes procedían de manera homogénea de las diferentes plantas y unidades de hospitalización recogidas en la Laboratorio de urgencias, el 25,1% (72) fueron remitidas desde el Servicio de Urgencias, el 15,7% (45) servicio de UVI, el 7,6% (22) de la procedencia de las muestras fue de las Consultas Externas y 4,5% (13) de los CAEs u otros hospitales externos.

**RESULTADO:**

Tipo de Muestra no conforme	N	%
Hemocultivos	133	46,6
Hisopos de exudados	58	20,3
Orinas	22	7,7
Esputos	17	5,9
Medio granada	12	4,2
Heces (coprocultivos o parásitos)	9	3,1
Punta de catéter	9	3,1
Frotis orofaríngeos	7	2,4
LCR	6	2,1
Otros líquidos estériles	5	1,7
Biopsias	5	1,7
Secreción bronquial	2	0,7
<b>Total</b>	<b>285</b>	<b>100</b>

Tipo de Disconformidad	N	%
Muestra sin identificar el paciente	183	63,9
Muestra mal conservada	47	16,4
No coincide muestra con petición	15	5,2
Posición incorrecta (no vertical)	9	3,1
Petición sin identificar	6	2,1

Muestra mal cerrada y derramada	6	2,1
Medio de transporte erróneo	5	1,7
Muestra sin petición	4	1,4
Petición mal cumplimentada	4	1,4
Petición sin muestra	2	0,6
Otros varios	5	1,7
Total	286	100

\* sobre 285 muestras, porque en una se desconocía su procedencia. Casi la mitad de las muestras no conformes se tratan de hemocultivos, muestra de especial importancia por la localización infecciosa que representa y la dificultad de su obtención. El tipo de disconformidad en este tipo de muestra vino dada por muestra sin identificar el paciente (127 casos), mala conservación (3 casos), no coincidir la muestra con la petición (2 casos) y medio de transporte erróneo (1 caso). El error más frecuente es que la muestra viene sin identificar, seguida de la mala conservación de la misma, hay variedad de errores entre las que destacan las muestras mal cerradas y derramadas o la incorrecta posición de los medios Granada para la investigación de *St. agalactiae* en embarazadas.

## CONCLUSION

Estos errores pueden ocasionar un fracaso en el aislamiento del agente etiológico o retrasar el diagnóstico del paciente, disminuyendo la calidad de nuestro trabajo y un gasto económico y de tiempo por lo que se debería adiestrar al personal de enfermería en la correcta identificación de las muestras y normas de envío.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 337

## EVALUACIÓN DEL CITÓMETRO DE FLUJO SYSMEX UF-1000 COMO MÉTODO DE CRIBADO DE UROCULTIVOS NEGATIVOS

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: YOLANDA PAREDES MUÑOZ, ANTONIA MORALES MOLINERO, BELÉN PALACIOS MORA, MARIANA ORGANERO ALMODÓVAR Y ROSARIO ALCÁÑIZ ROPERO.

Centro de trabajo: HOSPITAL GENERAL LA MANCHA CENTRO

Correo electrónico del primer firmante: ypanamuz@yahoo.es

## Introducción:

Las infecciones del tracto urinario (ITU) constituyen la segunda causa de infección en España, tanto en el hospital como en la comunidad. Para conocer el agente etiológico responsable y su sensibilidad antimicrobiana es necesario realizar el cultivo microbiológico de la orina, lo que supone una importante carga de trabajo para el laboratorio, sobre todo si tenemos en cuenta que la mayoría de los urocultivos son negativos.

## Objetivo:

Valorar si el equipo SYSMEX UF-1000i (Roche Diagnostics, SL) permite discriminar con una buena sensibilidad, qué muestras procedentes de atención primaria no sería necesario sembrar, ahorrando tiempo, material y un tratamiento antibiótico empírico innecesario para el paciente.

## Material y métodos:

Se estudiaron un total de 1.026 orinas, seleccionando al azar 20 orinas diarias recogidas en tubo con ácido bórico, procedentes de distintos centros de salud del área sanitaria correspondiente al Hospital General La Mancha Centro. No se excluyeron niños ni embarazadas, pero sí se excluyeron orinas de sondaje y orinas de pacientes con enfermedad renal crónica, quedando solo 947 orinas para el estudio. Dichas muestras se procesaron por el UF-1000i, obteniendo datos del número de bacterias, leucocitos y levaduras/mpul. Posteriormente, las orinas se sembraron con asa calibrada de 10 mpul en medio Columbia (Beckton Dickinson, SA) en recuento y medio Levine (Beckton Dickinson, SA) en aislamiento, incubándose a 35°C durante 18 horas. Se consideraron orinas positivas aquellas que presentaron un recuento bacteriano  $\geq 100.000$  UFC/ml. Para el análisis estadístico se utilizó la aplicación informática SPSS 15.0, realizando análisis de curvas ROC y tablas de contingencia.

## RESULTADOS:

Se compararon los datos obtenidos con el citómetro y el urocultivo, obteniendo distintos valores de sensibilidad (S) y especificidad (E) en función del número de bacterias y la presencia de leucocitos. Para valorar estos dos parámetros al mismo tiempo se aplicó la fórmula  $\text{leucocitos} \times 2 \times \text{bacterias}$ . El análisis de la curva ROC ( $\text{AUC}=0,837$ ,  $p=0,001$ ) nos permite estimar como posible punto de corte el nivel de 5.000, con una S del 97,1% y una E del 26,1%. El análisis de la tabla de contingencia arroja un índice kappa de 0,302 ( $p=0,001$ ), un valor predictivo positivo (VPP) del 22,7% y un valor predictivo negativo (VPN) del 97,6%.

## CONCLUSIONES:

- 1.-El uso del UF100i puede suponer una importante disminución, cercana al 25%, en el número de orinas sembradas.
- 2.-Al ser una técnica de cribado los valores de S y VPN obtenidos son satisfactorios.

Sin embargo, consideramos que sería conveniente ampliar el número de muestras con el fin de evaluar si los falsos negativos detectados (0,5% de las orinas analizadas) presenta algún patrón característico (diagnóstico, edad, sexo, etc) de manera que nos permitiera su exclusión del estudio y aumentar la E de la técnica.

3.-El bajo valor obtenido en el índice kappa es consecuencia de utilizar una técnica de cribado, en la que el número de falsos positivos es obviamente elevado. Consideramos la posibilidad de que la E y el VPN aumentarían al excluir pacientes con determinadas características, ya que podría modificar el punto de corte

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 346

## CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE VIRUS RESPIRATORIOS EN PACIENTES ADULTOS HOSPITALIZADOS

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Rosa Hortensia Rodríguez-Pollán; M<sup>a</sup>.Fe Bello-Franco; M<sup>a</sup> Carmen Panero-Dominguez; M<sup>a</sup> Isabel Bresme-Trigo; M<sup>a</sup> Dolores López-Fontecha; M<sup>a</sup> Isabel Fernandez-Natal.

Centro de trabajo: Complejo Asistencial Universitario de León, Sacyl

Correo electrónico del primer firmante: hrodriguezp@saludcastillayleon.es

## Introducción:

Las infecciones respiratorias víricas presentan altas tasas de morbilidad y mortalidad. Tienen carácter estacional y la clínica puede ser muy diversa. El diagnóstico precoz es esencial para su correcto manejo. La dificultad reside en detectar el gran número de virus implicados.

## Objetivos:

Diagnóstico etiológico de las infecciones víricas en pacientes adultos graves hospitalizados mediante técnica molecular de microarrays. Estudio comparativo con los resultados obtenidos mediante otras técnicas.

## Material y métodos:

Se estudiaron exudados nasofaríngeos de 38 pacientes hospitalizados en el Complejo Asistencial Universitario de León durante enero de 2010. A cada muestra clínica se le aplicó tres técnicas de detección: i) inmunocromatografía (ICR): cuatro virus (no subtipos) en tres ensayos: RSV, influenza (I) A y B (Binax Now. Inverness medical), y adenovirus (Adeno Respi-Strip (Coris. Bioconcept); y dos técnicas moleculares previa extracción automática (MagnaPure Compact. Roche): ii) molecular por microarray (MM) (CLART® PneumoVir. Genomica), 19 virus y subtipos en un ensayo: IA (genérico, H1N1 2009, H3N2, H1N1 estacional), IB y IC, parainfluenza (PI) (1, 2, 3, 4, 4A, 4B), RSV (A, B), metapneumovirus (A, B), adenovirus, coronavirus229, enterovirus B (echovirus) y bocavirus; iii) PCR a tiempo real (RT-PCR) (Inf A/H1N1 Detection Set Roche), 2 virus: IA (genérico y H1N1 2009) en un ensayo.

## RESULTADOS:

Los 38 pacientes estudiados fueron hospitalizados con el diagnóstico presuntivo de gripe, presentaron un rango de edad de 26-72 con media de 42,3 años y el 60,5% fueron hombres. Los resultados obtenidos por las tres técnicas empleadas se exponen en la Tabla. Los porcentajes de positividad en la detección de virus respiratorios fue: 2,6% por ICR (1 paciente: VRS), 31,6% por RT-PCR (12 pacientes: 11 IA (H1N1)2009 y un IA genérico) y 65,8% por MM (13 IA (H1N1)2009, 1 IA genérico, 11 otros virus respiratorios). El más frecuente fue IA (H1N1)2009 ( $n=13$ ; 34,2%) seguido de VRS B y rinovirus ( $n=4$ ; 10,5% respectivamente), bocavirus ambos en coinfección- y adenovirus ( $n=2$ ; 5,3%), y VRS A, IA genérico, PI 3 y enterovirus ( $n=1$ ; 2,6% respectivamente). Entre ambas técnicas moleculares se observó concordancia en 11 de los 14 casos detectados como virus IA (78,6%). La discordancia en los 3 pacientes restantes, requerirán estudios posteriores de secuenciación.

Caso	RT-PCR	Microarray	Inmuno-cromatografía	Caso	RT-PCR	Microarray	Inmunocromatografía
1	IA (H1N1)2009	IA (H1N1)2009	Negativo	20	IA (H1N1)2009	IA (H1N1)2009	Negativo
2	IA (H1N1)2009	IA (H1N1)2009	Negativo	21	IA (H1N1)2009	IA (H1N1)2009	Negativo
3	Negativo	IA genérico	Negativo	22	Negativo	Negativo	Negativo
4	IA genérico	IA (H1N1)2009	Negativo	23	Negativo	Negativo	Negativo
5	Negativo	Negativo	Negativo	24	Negativo	RSV B	Negativo
6	Negativo	RSV B	Negativo	25	Negativo	RSV A, RSV B	VRS
7	IA (H1N1)2009	IA (H1N1)2009	Negativo	26	Negativo	Negativo	Negativo
8	Negativo	Negativo	Negativo	27	Negativo	PI 3	Negativo
9	Negativo	Negativo	Negativo	28	Negativo	IA (H1N1)2009	Negativo

10	IA (H1N1)2009	IA (H1N1)2009	Negativo	29	Negativo	Rinovirus	Negativo
11	IA (H1N1)2009	IA (H1N1)2009. Bocavirus	Negativo	30	Negativo	Negativo	Negativo
12	Negativo	Enterovirus. Rinovirus	Negativo	31	Negativo	Adenovirus	Negativo
13	IA (H1N1)2009	IA (H1N1)2009	Negativo	32	Negativo	Negativo	Negativo
14	IA (H1N1)2009	IA (H1N1)2009	Negativo	33	IA (H1N1)2009	IA (H1N1)2009	Negativo
15	Negativo	Negativo	Negativo	34	Negativo	Bocavirus. VRS B. Rinovirus	Negativo
16	Negativo	RSV B	Negativo	35	Negativo	Negativo	Negativo
17	Negativo	Negativo	Negativo	36	Negativo	Negativo	Negativo
18	Negativo	Negativo	Negativo	37	Negativo	Rinovirus	Negativo
19	Negativo	Adenovirus	Negativo	38	IA (H1N1)2009	IA (H1N1)2009	Negativo

## CONCLUSIONES:

1. La técnica molecular por microarray permitió la detección múltiple de virus respiratorios (n=9), genéricos y subtipos, en un único proceso, en el 65,8% de las muestras frente al 31,6% obtenido por RT-PCR en un proceso y 2,6% por inmunocromatografía en tres procesos. 2. En el 50% de los casos negativos por RT-PCR, se detectaron virus respiratorios distintos a gripe A por técnica de microarray (falsos negativos por otras técnicas). 3. La discordancia entre técnicas puede estar relacionado con carga viral baja y/o características de la muestra (moco o sangre). 4. Destaca la detección por microarray de coinfecciones (10,5% del total y 16,7% de las muestras positivas) y virus emergentes (bocavirus) e infrecuentes (enterovirus). 5. Importancia del diagnóstico etiológico precoz y preciso para aplicación de medidas preventivas y terapéuticas adecuadas contribuyendo al control de la infección y al uso adecuado de antibióticos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 350

## DETECCION DE VIRUS RESPIRATORIOS MEDIANTE CULTIVO CELULAR Y SU COMPARATIVA CON DIAGNOSTICO MOLECULAR.

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Sánchez Hernández María de la Paz, García García Carmen, Rojo Rello Silvia.

*Centro de trabajo:* Clínico Universitario de Valladolid.

*Correo electrónico del primer firmante:* ahr@simecal.com

## Introducción:

Desde el pasado brote pandémico de gripe AH1N1 al laboratorio de virología se remitieron numerosas muestras de pacientes sospechosos de padecer una infección respiratoria viral. La única técnica utilizada hasta el momento era la del cultivo celular (Shell-vial), pero la pandemia obligó a introducir técnicas más rápidas y específicas como la detección molecular.

## MATERIAL Y METODOS:

Durante el periodo, de febrero a mayo de 2010 se procesaron 313 muestras en el laboratorio de virología. El diagnóstico se realizó por dos métodos diferentes:

Cultivo celular de Shell-vial es una técnica de diagnóstico virológico rápido que combina el aislamiento de virus en monocapa celular y la identificación de Antígenos mediante el empleo con Anticuerpos monoclonales. Los Anticuerpos utilizados fueron: Gripe A, Gripe B, Adenovirus, Virus Respiratorio Sincitial y Parainfluenza.

Para el diagnóstico molecular se utilizó el método XTAG Respiratory Viral Panel Fast (Luminex Molecular Diagnostic Abbott ®), que permite diagnosticar diecisiete virus respiratorios; entre ellos los cinco virus que se analizan mediante el cultivo celular.

## RESULTADOS:

Para el virus respiratorio Adenovirus obtuvimos 8 muestras positivas mediante cultivo celular, 2,5%, que aumentó hasta en 24 muestras positivas, 7,6%, mediante la técnica molecular.

Para el virus respiratorio Sincitial el porcentaje de positividad se igualó a un 15% ya que la técnica molecular detectó 2 muestras menos que en el cultivo celular, debido a un ensayo fallido en el mismo.

En el virus Parainfluenza se pasó de obtener 1 muestra positiva por cultivo celular, 0,31%, a 15 muestras en detección molecular, 4,8%.

No se obtuvo en ese periodo estudiado ninguna muestra positiva para el virus de la Gripe A y B en cultivo celular, en cambio con la técnica molecular se detectaron 94 muestras positivas, 30%, dentro de las cuales se encuentra la Gripe A, Gripe B y resto de virus respiratorios del panel.

## CONCLUSIONES:

A la vista de los resultados obtenidos, consideramos que la técnica molecular presenta una mayor sensibilidad que el cultivo celular y permite detectar mayor número de virus respiratorios.

En el único caso en que la sensibilidad no destaca es en el virus respiratorio Sincitial donde los resultados son los mismos.

Ambas técnicas son compatibles en un Servicio de Virología ya que cada una aporta unas cualidades diferentes; mientras la técnica molecular aporta mayor sensibilidad, el cultivo celular es más específico ya que es necesario mantener al virus viable en la muestra respiratoria.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 351

## ENSAYOS DE FUSOGENICIDAD CON VIRUS RECOMBINANTES DEL VHI-1

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Carolina Arcones, Cecilio López Galíndez, María Pernas.

*Centro de trabajo:* Virología Molecular, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* c.arcones@isciii.es

## RESUMEN:

Ensayos de fusogenicidad con virus recombinantes del VHI-1.

## Introducción:

La infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es la causante del síndrome de inmunodeficiencia humana (SIDA). El tiempo transcurrido desde la primoinfección hasta la progresión a SIDA es variable entre pacientes. En general, los pacientes progresan a SIDA a los 7-10 años. Existe un grupo de pacientes que han centrado últimamente gran parte de los estudios, que son los pacientes no progresores de élite, que carecen de síntomas de la enfermedad en ausencia de tratamiento, después de una infección por el VIH superior a 10 años.

Una de las posibles causas de esta falta de progresión es la infección por variantes virales cuya capacidad de infectar o replicar sea baja. La capacidad fusogénica de estos virus puede clave en este proceso. Disponer de ensayos para medir la fusogenicidad de los virus tiene por tanto una gran utilidad para determinar su papel en la patogenia viral.

## Objetivo:

En general, los ensayos de fusión se han desarrollado para probar envueltas virales incluidas en vectores de expresión, en los que se generan pseudovirus que son capaces de producir un único ciclo de infección. En nuestro laboratorio disponemos de una colección de virus recombinantes completos que son capaces de producir infecciones en cultivos. En este trabajo nos hemos propuesto la puesta a punto del protocolo de fusión de pseudovirus a recombinantes completos.

## Métodos

Los ensayos de fusión se hacen por transfección en células 293T con el plásmido que contiene la envuelta viral que se quiere analizar. Dos días después de la transfección se le añaden las células TZM que contienen el gen de luciferasa cuya expresión está bajo el promotor de tat. En este sistema si existe fusión por la envuelta viral, hay producción de luciferasa. Hemos adaptado este método para la utilización de virus completos, realizando la infección de células 293T con los virus recombinantes completos y la posterior adición de células TZM.

## RESULTADOS:

Para la puesta a punto del ensayo se han probado tres proporciones distintas de las células 293T y las células TZM (105/105, 5.105/105, 105/ 5.105). Después de transfectar con dos virus control, pNL4.3 y S61 se observó que no existían grandes diferencias en cuanto a la fusogenicidad en función de las distintas proporciones.

Dado que no existen grandes diferencias entre las proporciones analizadas, se utilizó la proporción 105293T/ 105TZM. Estas condiciones se han utilizado para ensayar 4 variantes virales procedentes de un paciente no progresor. Todas ellas presentaron unos niveles de fusión más bajos que el virus S61 incluido como control

## Conclusión

Se ha adecuado el protocolo de fusión con pseudovirus a virus recombinantes completos. Con este nuevo método, los resultados obtenidos hasta el momento sugieren que las variantes obtenidas de pacientes VHI-1 no progresores tienen unos niveles de fusión inferiores al virus control.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 356

## ANÁLISIS DE LOS ESTUDIOS URGENTES DE PLASMODIUM EN EL LABORATORIO DEL HOSPITAL BASURTO EN LOS AÑOS 2005-2010

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Angulo Carramiñana María Jesús, Varela Soto María Begoña Gloria, Díez de Diego María Aránzazu, Aguayo Gredilla Francisco Javier.

Centro de trabajo: Laboratorio 24 horas. Hospital Basurto (Bilbao)

Correo electrónico del primer firmante: MARIAJESUS.ANGULOCARRAMINANA@OSAKIDETZA.NET

## INTRODUCCION:

La malaria es una enfermedad producida la infestación de parásitos del género Plasmodium (P). La enfermedad puede ser causada por una o varias de las diferentes especies de P: P.falciparum, P.vivax, P.malariae, P.ovale y P.knowlesi. Los vectores de esta enfermedad son diversas especies del género Anopheles. La malaria fue erradicada de España oficialmente en el año 1.964.

La incidencia de la malaria se ha duplicado en nuestro país desde 1.995. Esta enfermedad está rebrotando debido, entre otras cosas, al aumento de los viajes al extranjero, la inmigración, la cooperación humanitaria, los negocios internacionales y las operaciones militares. Entre 1.986 y 1.995 se registraron una media de 225 casos anuales, mientras que desde 2.000 se rondan los 450.

## Objetivos:

Analizar la actividad de detección del paludismo en el laboratorio de urgencias del hospital de Basurto, para evaluar el porcentaje de positividad en estos últimos años

## MATERIAL Y METODOS:

Se forma un equipo de tres técnicos y el responsable de la Unidad para analizar los datos entre los años 2005 y 2010. Para el estudio de las muestras sospechosas de paludismo, en nuestro laboratorio utilizamos una prueba rápida de detección del antígeno, (PALUTOP+4; ALL.DIAG) que realiza una detección específica de P.falciparum y P.vivax. Adicionalmente detecta la presencia de otras especies de forma inespecífica (P.ovale, P.malariae etc). El test se realiza con sangre total anticoagulada (Edta,u Oxalato).

Una vez realizado el test de detección antigénica, se hacen extensiones finas en porta, se tiñen con Giemsa al 10% y se miran al microscopio con objetivo de inmersión (x100) en unos 200-300 campos. Posteriormente se envía la muestra al laboratorio de Microbiología para su confirmación.

## RESULTADOS:

Durante el período 2.005-10 se realizaron 319 solicitudes de análisis de plasmodium. El número de solicitudes anuales se mantiene estable entre 44 y 54, excepto en el año 2006 en el que se realizaron 74 estudios. Del total de solicitudes, 52 fueron positivas (16,3%) y 267 negativas (83,7%). El porcentaje anual de positividades resultó bastante estable, en torno al 21% excepto en el año 2005, en el que sólo de detectó un caso positivo (2%). El plasmodium más frecuentemente detectado fue el P.Falciparum (49 casos; 94%), seguido por el P.vivax (3 casos; 6%). No se detectaron otros tipos de P. No se detectó tampoco ningún plasmodium en frotis fino, que tuviera un antígeno negativo.

## CONCLUSIONES:

- 1.- Se analizan anualmente una media de 49 estudios de detección de plasmodium, excepto en el año 2006, en el que se detectó un pico de 74 solicitudes.
- 2.- El plasmodium más frecuentemente detectado con gran diferencia fue el P.Falciparum (94%)
- 3.- No se encontró ningún caso positivo en el frotis fino que no hubiera sido detectada mediante el kit de detección antigénica.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 361

## ETIOLOGÍA DE URETRITIS EN HOMBRES (2009-2010)

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: M<sup>a</sup>Luisa Sancho Arroyo, M<sup>a</sup>Isabel Alonso Chamarro, Ramon Espelt, Pilar Arjona Cuadrado, Sandra Mascort Martí, Sara Martínez Martínez, M<sup>a</sup>Carmen Baena Martínez, Melani Roca Arenas, José Miguel Sampietro Mata

Centro de trabajo: CATLAB

Provincia: BARCELONA

Correo electrónico del primer firmante: mawi7@hotmail.es

## Introducción:

La uretritis es un síndrome caracterizado por la aparición de exudado uretral mucopurulento, disuria o prurito en el meato urinario. Se clasifican en Uretritis Gonocócica (UG) aquellas cuyo microorganismo causal es la Neisseria gonorrhoeae y Uretritis No Gonocócicas (UNG) siendo Chlamydia trachomatis y Ureaplasma urealyticum los agentes bacterianos más frecuentemente hallados.

## Objetivos:

Conocer la incidencia de microorganismos causales de uretritis en nuestra en nuestra área utilizando el cultivo convencional en el laboratorio de microbiología y por lo tanto excluyendo la búsqueda de Chlamydia trachomatis en los resultados.

## Material y métodos:

Desde el 1 de enero de 2009 al 31 de diciembre de 2010 recibimos 1091 muestras de exudado uretral provenientes de hombres con sospecha de uretritis. Todas las muestras, en su gran mayoría recogidas en Centros de Atención Primaria, fueron trasladadas sin refrigerar a nuestro laboratorio. La totalidad de las muestras se observaron al microscopio óptico a 100x con tinción convencional de GRAM. Se sembraron en placas convencionales

y selectivas: Agar PVX, VCA3, GARD (BIOMÉRIEUX), Brillance Candida (OXOID) y en galería Mycoplasma IST2, BIOMÉRIEUX, incubándose durante 48h con 5% CO<sub>2</sub>. Las placas VCR3 se incubaron 72h. Las cepas aisladas de N. gonorrhoeae se analizaron mediante la prueba de la citocromo oxidasa galería API NH BIOMÉRIEUX S.A y/o tarjeta VITEK NH, BIOMÉRIEUX.

## RESULTADOS:

De las 1091 muestras estudiadas en un período de dos años, 330 resultaron positivas (30%): 118 Ureaplasma urealyticum (36%), 90 Neisseria.gonorrhoea (27%), 74 Candida spp. (23%), 45 Gardnerella vaginalis (14%), 3 Mycoplasma hominis (1%) 2 Trichomonas vaginalis (0.6%).

## CONCLUSIONES:

En el 30% de las muestras estudiadas se aisló algún microorganismo.

Neisseria gonorrhoeae fue responsable del 8% de las uretritis estudiadas en nuestra área.

La causa más frecuente de UNG fue Ureaplasma urealyticum presente en un 11% del total de determinaciones

Creemos necesario realizar también el estudio molecular para buscar Chlamydia trachomatis en exudado uretral.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 366

## INCIDENCIA DE LA INFECCIÓN POR POLIOMAVIRUS BK EN PACIENTES TRASPLANTADOS RENALES

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Martínez García, Pascuala; García Ruiz, M<sup>a</sup> Amparo; Magaña Martínez, Isabel M<sup>a</sup>; Hita López, Ana M<sup>a</sup>; Salvador García, Carme.

Centro de trabajo: Unidad de Virología (Servicio Microbiología). Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia.

Correo electrónico del primer firmante: saryma23@hotmail.com

## Introducción:

El poliovirus BK (BKV) es un virus de pequeño tamaño que permanece latente principalmente en el riñón tras la infección primaria. Este virus puede reactivarse en pacientes inmunodeprimidos, preferentemente en trasplantados renales. Esta reactivación se asocia a nefropatía intersticial, estenosis uretral o cistitis hemorrágica, con deterioro de la función renal en un 1-10% de los casos y alta tasa de pérdida del injerto. Según las recomendaciones de distintas sociedades científicas de trasplante renal, se establece que concentraciones superiores a 104 copias/ml en plasma y 107 copias/ml en orina se asocian con un mal pronóstico de la enfermedad.

## Objetivo:

Determinar la incidencia de infección por BKV en pacientes receptores de trasplante renal.

## Material y métodos:

Se analizaron prospectivamente muestras de plasma y orina de pacientes con trasplante renal durante un período de un año (febrero 2010-enero 2011). Se procesaron un total de 257 muestras (66 muestras de plasma y 191 muestras de orina). La detección del ADN de BKV se realizó mediante la técnica de PCR a tiempo real cuantitativa SmartBKV (Cepheid, Suecia), con un rango de detección de 300 a 1x10<sup>8</sup> copias/ml. Previamente, se realizó la extracción de los ácidos nucleicos con el sistema automatizado EasyMag (BioMerieux, Francia).

## RESULTADOS:

Durante un período de un año se analizaron 257 muestras procedentes de 63 pacientes con trasplante renal. La edad media de los pacientes fue de 47 años (19-71) y el 57% eran hombres (36/63). Se analizó plasma de 27 pacientes, de éstos 10 presentaron viremia positiva. Del total de las 66 muestras de plasma analizadas, 41 fueron positivas (62%) y en 30 de ellas se obtuvo una viremia superior a 104 copias/ml. Por su parte, se analizó orina de 60 pacientes y 18 de ellos presentaron viruria. Se detectó el ADN del BKV en 48 de las 191 muestras de orina analizadas (25%). En el 52% de las muestras de orina positivas (25/48) se detectó el virus a concentraciones elevadas (>107 copias/ml). Se determinó simultáneamente la viremia y la viruria en 33 muestras procedentes de 20 pacientes. La carga viral del BKV fue indetectable en 10 muestras de plasma y de orina procedentes de 8 pacientes. En las muestras del resto de pacientes con determinaciones simultáneas de viruria y viremia se observó cargas virales superiores para viruria.

## CONCLUSIONES:

Las técnicas moleculares actuales permiten la detección y cuantificación del BKV para realizar un diagnóstico precoz de nefropatía causada por dicho virus y mejorar así el pronóstico de la enfermedad.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 369

## EVOLUCIÓN DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS DE ESCHERICHIA COLI EN LA INFECCIÓN URINARIA DE VÍAS BAJAS EN LA COMUNIDAD.

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: García Vela, José Herminio y Franco Álvarez de Luna, Francisco.

Centro de trabajo: Hospital General de Ríotinto.

Provincia: Huelva

Correo electrónico del primer firmante: jhgvela@yahoo.es

### Introducción:

Las infecciones del tracto urinario (ITU) de las vías bajas son muy frecuentes, sobre todo en mujeres, y son uno de los principales motivos de consulta en el ámbito de atención primaria. Se estima que en España un mínimo de 3.819.100 de mujeres de entre 20 y 44 años desarrollan al año una cistitis aguda y que de estas, 954.775 presentarían recurrencias. El objetivo de nuestro trabajo es el conocimiento de los principales agentes etiológicos en la ITU de la comunidad así como la sensibilidad del principal uropatógeno, *Escherichia coli* y su evolución en el periodo de tiempo del estudio.

### Material y método:

Se trata de un estudio retrospectivo desde enero de 2005 hasta diciembre de 2008, en el que se analizan los uropatógenos aislados en pacientes con infección del tracto urinario bajo, adquirida en la comunidad. Se procesaron un total de 15798 muestras de orina de pacientes, de ambos sexos y todas las edades, con sospecha clínica y confirmación microbiológica de infección, complicada o no complicada; de las cuales se aislaron un total de 1861 uropatógenos. La determinación de la piuria, se realizó mediante el sistema automatizado Urisys 2044 y UF-1000 (Roche®), el urocultivo se realizó sembrando las muestras de orina en asa calibrada de 10µl, en medio de CLED. La identificación bacteriana y el estudio de sensibilidad a los antimicrobianos se realizó determinando la CMI, empleando la metodología semiautomatizada de paneles combo C37 de Microscan (Siemens®). Se estudio la sensibilidad frente a fosfomicina, ampicilina, amoxicilina-ácido clavulánico, cefuroxima, cefotaxima, cotrimoxazol, nitrofurantoina y ciprofloxacino.

### RESULTADOS:

Se obtuvieron un total de 1861 aislamientos bacterianos. De ellos, 1658 (89%) fueron bacilos gramnegativos. El microorganismo aislado con mayor frecuencia fue *E. coli* (66%), seguido a gran distancia por *Klebsiella pneumoniae* (8,8%), *Enterococcus faecalis* (6,1%), y *Proteus mirabilis* (4,1%) entre otros. Los porcentajes de sensibilidad de *E. coli* a los antibióticos estudiados se resumen por años en siguiente tabla: destaca la elevada sensibilidad de *E. coli* a fosfomicina (96,8%) y nitrofurantoina (97,5%). Asimismo, la gran mayoría de los aislados de *E. coli* fueron sensibles a cefotaxima (91,5%). La sensibilidad a amoxicilina-ácido clavulánico y cefuroxima se situó alrededor del 85%. Se observaron bajos niveles de sensibilidad de *E. coli* a cotrimoxazol (64%) y sobre todo a ampicilina (38,8%). El porcentaje de resistencias a ciprofloxacino superó el 30%.

Tabla. 1 Porcentaje de sensibilidad de los aislados de *Escherichia coli* a lo largo de cuatro años:

Antimicrobiano	2005	2006	2007	2008	total
Ampicilina	40,2%	37,6%	38,8%	38,5%	38,8%
Amoxicilina/ clavulánico	88%	89%	78,9%	80,2%	83,7%
Ciprofloxacino	64%	59,5%	64,9%	65,4%	63,6%
Cefuroxima	81,5%	87,1%	86,9%	89,1%	86,3%
Cefotaxima	89,1%	92,6%	91%	92,8%	91,5%
Fosfomicina	96,3%	96,8%	97,1%	97,1%	96,8%
Cotrimoxazol	75,3%	57,1%	67,5%	64,8%	64%
Nitrofurantoina	97%	96,1%	97,1%	99%	97,5%

### CONCLUSIONES:

La necesidad de antibioticoterapia empírica, tanto en la cistitis no complicada como en la complicada, hace absolutamente necesario que cada zona geográfica conozca en profundidad los agentes etiológicos y su sensibilidad antimicrobiana. La resistencia de *E. coli* a ciprofloxacino fue superior al 30%. Una tasa de resistencia demasiado elevada para recomendar a ciprofloxacino como tratamiento empírico de las infecciones del tracto urinario bajo. Fosfomicina se comporta como un antibiótico de primera línea en el tratamiento de las infecciones del tracto urinario bajo, ya que el 96,8% de *E. coli* fueron sensibles a ella. Especialmente indicada en el tratamiento de las cistitis no complicadas en mujeres jóvenes.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 371

### TENDENCIA DE LA INFECCIÓN POR ROTAVIRUS EN EL HOSPITAL DE BASURTO EN 2010

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Monika Aras Ibarzabal, Isabel de la Puebla Perez, Begoña Larrauri Garcia, Juan Sanchez Lafuente y Ramón Cisterna Cancer.

Centro de trabajo: Hospital de Basurto

Provincia: VIZCAYA

Correo electrónico del primer firmante: monika@irakari.jazztel.es

### Introducción:

La gastroenteritis puede ser provocada por virus (Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus, Calicivirus, etc.), por bacterias como la *Salmonella* y por protozoos como la *Giardia lamblia*. El 40% de las gastroenteritis en niños menores de 4 años son de origen viral. Entre ellos, el Rotavirus es la primera causa de diarrea. Se transmite por contacto fecal-oral y después de un periodo de incubación de más o menos 3 días, genera fiebre, vómitos y diarreas que pueden persistir hasta 10 días.

La cápside de la partícula viral está formada por tres capas proteicas concéntricas que encierran el genoma. La cubierta externa está formada por las proteínas estructurales VP4 y VP7, que son los antígenos neutralizantes del virus. La cubierta media está formada por la proteína VP6 y la más interna la compone VP2 y en menor cantidad VP1 y VP3.

El diagnóstico de las infecciones por Rotavirus se hace habitualmente detectando la existencia de antígeno vírico en muestras de heces. La proteína VP6 es la más detectada por las diversas técnicas diagnósticas comercializadas.

### Objetivo:

Conocer la incidencia de gastroenteritis víricas producidas por Rotavirus en muestras fecales remitidas a nuestro laboratorio durante el 2010.

### Material y métodos:

Hemos utilizado GastroVir-Strip que es un test de diagnóstico rápido in vitro para la detección de Rotavirus y Adenovirus.

Se trata de un test listo para su uso basado en un sistema de membrana homogéneo con partículas de látex.

La especificidad se debe a dos anticuerpos monoclonales conjugados con partículas de látex y dirigidos contra las proteínas VP6 del grupo A de Rotavirus, o bien contra proteínas específicas del serotipo 40 y 41 de los Adenovirus entéricos.

La muestra migra por difusión pasiva y si ésta contiene alguno de estos virus se forma el complejo conjugado-virus apareciendo una raya de color. El resultado se observa en 10 minutos.

### RESULTADOS:

Durante el periodo de estudio se han obtenido un total de 1369 muestras; de ellas 18 han sido rechazadas por muestra insuficiente o enviadas en medios inadecuados. Han resultado positivas un total de 157; de ellas 100 fueron niños y 55 niñas.

### CONCLUSIONES:

El grupo por edad más implicado ha sido el de los niños menores de 3 años; en un 95,5% de las muestras positivas enviadas a nuestro laboratorio. Hemos tenido solo dos muestras positivas en adultos y el mayor número se produjeron entre los meses de Diciembre y Marzo.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 377

### COMPARACIÓN DE 2 TÉCNICAS DE PCR A TIEMPO REAL (CMV R-GEN™VERSUS LIGHTCYCLER CMV QUANT) PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CARGA VIRAL DE CITOMEGALOVIRUS

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Magaña Martínez, Isabel M<sup>a</sup>; Martínez García, Pascuala; García Ruiz, M<sup>a</sup> Amparo; Hita López, Ana M<sup>a</sup>; Iborra Bendicho, M<sup>a</sup> Asunción.

Centro de trabajo: Unidad de Virología (Servicio Microbiología). Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia

Correo electrónico del primer firmante: saryma23@hotmail.com

### Introducción:

El Citomegalovirus (CMV) es un herpesvirus responsable de un amplio espectro de patologías en el hombre. El episodio de primoinfección se produce en la primera infancia. El virus diseminado por vía sanguínea da lugar a manifestaciones clínicas que cuando existen son raras y benignas. Desde ese momento el virus permanece en estado latente en su huésped y podrá ser reactivado favoreciendo una inmunosupresión. La severidad de las patologías resultantes viene determinada esencialmente por el estatus inmunitario del paciente. Los individuos débiles son esencialmente los pacientes receptores de trasplantes alogénicos de médula ósea o de órganos y los pacientes afectados de SIDA. El CMV se reconoce por su implicación en las afecciones neurológicas, las neuropatías y el agravamiento de la inmunodepresión en estos pacientes. Distinguir entre enfermedad e infección es importante, así como un rápido diagnóstico permitirá administrar tratamiento antiviral precoz reduciendo la severidad de la enfermedad.

### Objetivo:

Comparar 2 técnicas comerciales de PCR a tiempo real para la determinación de la carga viral de citomegalovirus en plasma.

### Material y métodos:

Se analizaron un total de 106 muestras de plasma para la cuantificación de la carga viral usando los kits comerciales LightCycler CMV Quant (Roche Diagnostics) y CMV R-gen™(Argene).

Las muestras de plasma fueron almacenadas a -20°C hasta su posterior cuantificación.

El DNA se obtuvo de manera automática a partir de 200µl de plasma usando protocolo Generic del sistema NucliSENS EasyMAG (Biomerieux, Francia).

Light Cycler CMV Quant (LC): kit basado en la amplificación mediante PCR a tiempo real



empleando la tecnología de la nucleasa 5'TaqMan. La pre-mix de citomegalovirus ready-to-use contiene los primers, sonda, polimerasa y tampón necesario para la amplificación específica. Para la cuantificación se emplean 5 estándares de 50, 500, 5000, 50000, 500000 copias/reacción, así como un control negativo y un control interno del ensayo. CMV R-gen™(RG): kit basado en la amplificación mediante PCR a tiempo real empleando la tecnología de la nucleasa 5'TaqMan. La pre-mix de citomegalovirus ready-to-use contiene los primers, sonda, polimerasa y tampón necesario para la amplificación específica. Para la cuantificación se emplean 4 estándares de 50, 500, 5000, 50000 copias/reacción, así como un control de sensibilidad (10 copias/reacción), un control negativo y un control interno del ensayo.

Los resultados cuantitativos son expresados como copias/mL (cp/mL).

#### RESULTADOS:

Entre las 106 muestras de plasma ensayadas, 4 muestras (3,8%) presentaban resultados discrepantes. Los resultados discrepantes pertenecían a muestras con cargas virales bajas (LC <1.000 cp/mL; RG: 1620, 1549, 1426 y 1194 cp/mL).

81 muestra (79,4%) tuvieron un resultado negativo o <1.000 cp/mL por ambas técnicas; 21 muestra (20,6%) tuvieron resultados superiores a 1.000 cp/mL por ambas técnicas.

#### CONCLUSIONES:

Los resultados obtenidos empleando el kit comercial LightCycler CMV Quant (Roche Diagnostics) son equivalentes a los obtenidos usando el kit comercial CMV R-gen™(Argene).

La presencia de un control interno en ambas técnicas nos asegura un correcto proceso de extracción y amplificación del ADN.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 396

### INCIDENCIA DE SEROPOSITIVIDAD, RECURSOS Y RESULTADOS: EN VARONES QUE ACUDEN A UN CENTRO DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Beatriz Losa Jover, Elena Sellés Soriano, Noelia Salinas Iniesta, Elena Martínez Díaz-Jiménez, Nicolás Garrido Puchalt, Manuel Muñoz Cantero

Centro de trabajo: IVI Alicante

Correo electrónico del primer firmante: Beatriz.Losa@ivi.es

#### Introducción:

La problemática existente en parejas serodiscordantes para los virus de la hepatitis C (VHC) y del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) con deseos reproductivos, en las cuales el hombre es seropositivo, respecto a la posibilidad de transmitir la infección a la pareja o a la descendencia, hace que el uso del semen de donante o la adopción fueran las únicas opciones. Actualmente, y gracias a técnicas de Reproducción Asistida y de Biología Molecular, es posible la utilización del semen de estos pacientes para conseguir estos propósitos. Por tanto, el objetivo de este estudio es describir nuestra experiencia y resultados en parejas serodiscordantes con el varón infectado por VIH o VHC.

#### Material y métodos:

27 varones seropositivos que acudieron a IVI-Alicante (2006-2010), bien conocedores de su infección o bien informados en nuestro centro tras la realización de las analíticas de su seropositividad, se sometieron a un tratamiento de Reproducción Asistida tras procesar el semen mediante los procedimientos de lavado seminal para muestras infecciosas y posterior comprobación de la ausencia viral por PCR antes de su uso clínico en reproducción asistida. Se realizó en cada uno de ellos un espermograma para valorar la calidad seminal previa al lavado. Luego se sometió el semen a sucesivos lavados mediante las técnicas de triples gradientes seguidas de técnicas de swim-up, de las cuales el volumen final recuperado se dividió en dos, una para realizar el estudio molecular mediante PCR (ARN vírico y RT-nested PCR) para descartar la presencia de virus y la otra mitad sometida a técnicas de criopreservación espermática y posteriormente almacenada en un banco de cuarentena a la espera del resultado molecular antes de su utilización para la técnica de ICSI.

#### RESULTADOS:

De 27 pacientes seropositivos que acudieron a nuestro centro se les realizó el lavado de semen por HCV a 20, por HIV a 1 y por la combinación de HIV y HCV a 6. Todos los resultados del lavado seminal fueron negativos a la presencia de cualquier virus.

Tipo de Infección	N	%
HCV	20	74,07%
HIV	1	1%
HCV+HIV	6	3,7%

De los 27 pacientes a los que se les realizó el lavado seminal se realizaron tratamiento de Reproducción Asistida 24 de ellos, en las que se utilizó en todos la técnica de ICSI donde se consiguieron 12 embarazos (50% de tasa de gestación) con la obtención de 15 recién nacidos vivos, todos ellos sanos.

Tratamiento RA	N	Gestaciones/tasa gestación/RNV
ICSI	24	12/50%/15

#### CONCLUSIONES:

Los resultados nos muestran que la infección por HCV es la más frecuente en varones seropositivos que acuden a nuestro centro, siendo la infección por HIV por sí sola la menos frecuente ya que el HIV es más habitual en pacientes que también son portadores de HCV. Es por eso la necesidad de determinar con carácter previo a tratamientos de reproducción asistida el riesgo biológico asociado al embarazo, que incluye el de enfermedades infecciosas transmisibles como el VIH y HCV entre otras, para poder aplicar las técnicas de reproducción asistida convenientes que tenemos a nuestro alcance y que nos evitan la contaminación horizontal y como consecuencia la vertical con el fin de lograr nacimientos de niños sanos libres de infección.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 397

### INFECCIÓN POR VIRUS INFLUENZA EN EL COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO DE VIGO DURANTE LAS DOS ÚLTIMAS TEMPORADAS GRIPALES

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Amoedo Fernández Elena, Touza Mosquera Olaia, Moure González Claudia, Ana Pérez Folgado, Mar Pérez Paredes, Martínez Lemos Eva, Garra López Pura, Rubio Alarcón Joaquín, González Alberte Sonia, Treinta Álvarez Ana Belén.

Centro de trabajo: Complejo Hospitalario Universitario de Vigo, Servicio de Microbiología. Vigo

Provincia: Pontevedra

Correo electrónico del primer firmante: elena.amoedo.fernandez@sergas.es

#### Introducción:

Los virus de la gripe que afectan a humanos son virus Influenza de 3 tipos (influenza A, B, C). Los virus de influenza A se denominan según el tipo de hemaglutinina y neuraminidasa que presenten. La vigilancia de la incidencia gripal se realiza generalmente en la temporada invernal desde la semana 40 hasta la semana 20 del año siguiente. Desde la aparición en abril de 2009 de los primeros casos en España de infección humana por virus influenza A H1N1v se mantuvo la vigilancia durante todo el año 2009 por parte del Sistema de Vigilancia de Gripe de España (SVGE), que aporta los datos al Sistema de Vigilancia Europeo (EISN). El Servicio de Microbiología del Hospital do Meixoeiro forma parte de la Red de Laboratorios Españoles de Gripe (ReLEG) que colabora con dicho sistema de vigilancia.

#### Objetivo:

Estudiar la evolución de la infección por el virus Influenza durante las temporadas gripales 2009/2010 y 2010/2011 en el Complejo Hospitalario Universitario de Vigo.

#### Material y métodos:

durante el período de enero de 2009 a febrero de 2011, se estudiaron muestras respiratorias de 2247 pacientes (1 muestra por paciente en cada temporada gripal) con una media de edad de 28,9 años (1 día-92,5 años). El 68% de las muestras fueron de tracto respiratorio superior y el 32% de tracto respiratorio inferior. La extracción del ARN (ácido ribonucleico) se llevó a cabo mediante QIAamp Viral Mini Kit (QIAcube-Qiagen) o extracción total de ácidos nucleicos (TNAI-Ampliprep-Roche). La detección de gripe A/H1N1v se realizó en 1177 casos mediante PCR (reacción en cadena de la polimerasa) en tiempo real (RT-PCR Flu Panel: AgPath-ID One-Step RT-PCR Kit, Applied Biosystems). La detección de gripe A, gripe B, gripe C se realizó en 1626 casos mediante PCR convencional que detecta la nucleoproteína viral (J Med Virol 2003 Jan;69(1):132-44), con posterior subtipado de la hemaglutinina en los casos de influenza A (J Med Virol. 2010 May;82(5):843-53) y secuenciación de los productos de PCR (BigDye Terminator v1.1. 3100-Avant. Applied Biosystems, base de datos del Centro Nacional para Información Biotecnológica) en caso de A H1 no pandémica.

#### RESULTADOS:

en 424 de los 2247 pacientes (18,9%) se detectó virus Influenza: 90,1% (382/424) Influenza A H1N1v, 1 Influenza A estacional (H1N1), 10 Influenza A H3, 26 Influenza B (2 coinfectando con H1N1v) y 1 Influenza C. Respecto a los virus influenza no H1N1v, durante 2009 y hasta el final de la temporada gripal 2009/2010 se detectaron: 1 A H1 estacional, 8 A H3 (todos antes de la semana 6 del año 2009), 3 B y 1 C. Durante la temporada gripal 2010/2011 se detectaron: 23 B y 2 A H3 estacional. Respecto al A H1N1v, la distribución por edades fue: 4% <5 años, 36,6% de 5 a 15 años, 34,5% de 16 a 45 años, 21,3% de 46 a 65 años, 10,1% > 65 años. En la temporada 2009/2010, el mayor índice de positividad para influenza (52,5%) se encontró entre las semanas 41 y 46. La distribución de influenza A H1N1v por semanas (s) fue: s41 11/40 (27,5%), s42 22/54 (40,7%), s43 41/78 (52,5%), s44 50/101 (49,5%), s45 23/62 (37,1%), s46 29/84 (34,5%). En la temporada 2010/2011, el mayor índice de positividad para influenza (41,0%) se encontró entre la s52 del 2010 y s6 del 2011. La distribución de influenza A H1N1v por semanas (s) fue: s52 16/39 (41,0%), s1 29/74 (39,2%), s2 17/59 (28,8%), s3 21/89 (23,6%), s4 10/55 (18,2%), s5 10/55 (18,2%), s6 12/52 (23,1%).

#### CONCLUSIONES:

1) La población más afectada por H1N1v fue la de edad entre 5 y 45 años. 2) En la temporada gripal 2009/2010 el mayor número de casos de gripe A/H1N1v se detectaron en las semanas 21 a 46, adelantándose 12 semanas respecto a las últimas temporadas de gripe y coincidiendo los datos del resto de España y Europa. 3) En la temporada gripal

2010/2011 el mayor número de casos de gripe A/H1N1v se detectaron en la semana 52 de 2010 y 6 del 2011. 4) El nuevo virus A H1N1v desplazó casi completamente al virus H1N1 estacional. En la temporada gripal actual la detección de gripe B ha aumentado respecto a la temporada anterior. 5) La coinfección de diferentes virus influenza en un mismo paciente ha sido excepcional.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 398

## COMPARACIÓN DE PRUEBAS DE DETECCIÓN DE PAPILOMAVIRUS HUMANOS (HPV) BASADAS EN LA DETECCIÓN MOLECULAR CON O SIN IDENTIFICACIÓN DE TIPOS ONCOGÉNICOS.

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Martín del Barrio, Esperanza. Montoya Sánchez, Ana M<sup>a</sup>. Callejo del Pozo, M<sup>a</sup> Paz. García-Loygorri Jordan de Urries, Cristina. Rojo Rello, Silvia. Eiros Bouza, Jose M<sup>a</sup>. Ortiz de Lejarazu Leonardo, Raúl. .

Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario de Valladolid.

Provincia: Valladolid

Correo electrónico del primer firmante: espemartindel@hotmail.com

### Introducción:

Existen distintos métodos comerciales de detección de HPV con diferencias en la metodología y genotipos incluidos. Ninguno de ellos puede considerarse como gold standard por lo que son necesarias comparaciones y combinaciones de ellos para adoptar un algoritmo que se ajuste mejor a las necesidades del laboratorio. Se presentan los resultados de la comparación de cuatro técnicas basadas en diferentes métodos moleculares.

### Material y métodos:

A partir de una muestra de 406 escobillones de cérvix uterino, recogidas en medio líquido (ThinPrep) de mujeres con solicitud de HPV por distintas causas clínicas; se seleccionaron 152 muestras que habían sido previamente testadas por una técnica de captura de híbridos (HC2 Digene). En todas ellas se realizaron tres técnicas adicionales de detección HPV: HPVvar (Roche), PCR35 (Genómica) y LIPA (Innogenetics) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. A cada mujer se solicitó consentimiento informado y se obtuvieron dos hisopos cervicales. Para calcular las características operacionales de la prueba, se consideró una muestra como positiva verdadera cuando tres o más pruebas habían dado un resultado positivo y verdadera negativa cuando dos o más habían dado un resultado negativo. Este estándar de oro adoptado se aplicó a los resultados de las cuatro técnicas. Los resultados se analizaron con el programa Epidat versión 3.1.

### RESULTADOS:

De las 152 muestras analizadas, 44 fueron negativas por dos o más técnicas y 108 positivas para algún HPV por tres o más técnicas. 92 muestras fueron positivas por HC2, LIPA y PCRar, de la misma forma 87 muestras fueron positivas por las técnicas PCR35, LIPA y PCRar. Por PCR35, LIPA y HC2, 81 muestras fueron positivas y 76 muestras fueron positivas por PCR35, PCRar y HC2.

Las características operacionales de las distintas técnicas en relación con el estándar de oro adoptado, se muestran en la tabla inferior.

Características operacionales de distintas técnicas de detección molecular de HPV

	S n (IC95%)	E	VPP	VPN	i Kappa	i Z
HC2	89,8% (84-96)	79,5% (66-93)	91,6 (86-97)	76,1 (63-90)	0,68 (0,6-0,8)	8,4
PCRar	95,4% (91-100)	54,6% (39-70)	83,7 (77-91)	82,8 (67-98)	0,55 (0,4-0,7)	7,1
PCR35	89,8% (86-96)	95,5% (88-100)	98 (95-100)	79,2 (67-91)	0,80 (0,7-0,9)	10
LIPA	100% (99-100)	59,1% (43-75)	85,7 (79-92)	100 (98-100)	0,67 (0,5-0,1)	8,7

### Discusión y CONCLUSIONES:

Las distintas pruebas utilizadas muestran valores en rangos similares. Las diferencias en sensibilidad y especificidad para las pruebas Parar y LIPA deben tener en cuenta la composición del panel (con predominio de muestras positivas; prevalencia del 71%). El elevado VPN del Parar y LIPA las hace adecuadas para un algoritmo combinado de diagnóstico de la infección HPV en el laboratorio.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 399

## TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO Y SUBTIPAJE DE LA INFECCIÓN POR EL HTLV-II.

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Ester Dominguez García, María Coronel, María Abad, Alejandro Vallejo

Centro de trabajo: Hospital Ramón y Cajal

Provincia: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: ester.dominguez@gmail.com

### Introducción:

Los retrovirus causan muchas enfermedades incluyendo cánceres e inmunodeficiencias. Existen 4 identificados: Virus de la inmunodeficiencia humana: tipo 1 (VIH 1) y tipo 2 (VIH-2), y Virus Linfotrópicos de células T humanos: tipo 1 (HTLV-1) y tipo 2 (HTLV-2). Todos ellos tienen como diana los linfocitos T aunque el HTLV, a diferencia del VIH, produce una inmortalización de estos, mas concretamente de los CD8, generando linfoproliferación. El primer retrovirus humano en identificarse fue el HTLV-1, por Poiesz B. y Gallo R. en 1980, causante de la Leucemia/Linfoma de células T en adulto y de la Paraplesia Espástica Tropical. Después se identificó en 1982 por Kalyanaram V. y colaboradores el HTLV-II que tiene una homología del 60% con el HTLV-I y aunque no tiene una patología clara se relaciona con la Leucemia de células tricoides, mielopatías y ciertos trastornos neurológicos. Por último y no menos importante el VIH. La infección por HTLV-II, en países desarrollados, se detecta principalmente en drogadictos coinfectados con VIH y en inmigrantes subsaharianos y subamericanos. El objetivo del presente estudio es analizar en una población de usuarios de drogas por vía intravenosa con infección por VIH el porcentaje de individuos con infección por HTLV, subtiparlos y analizar marcadores inmunológicos los estos ver marcadores inmunológicos.

### Material y métodos:

Se analizaron 256 individuos infectados por el VIH-1 y adictos a droga por vía parenteral (IDUs). Primero se realiza un bioELISA HTLV I+II utilizando plasma de los pacientes para la detección de los anticuerpos anti HTLV-I/HTLV-II. A las muestras positivas se las realiza un Western blot para la confirmación y discriminación de la infección por HTLV-I o HTLV-II. Para subtipar el virus se realiza una PCR de LTR viral seguido de una secuenciación del fragmento de ADN amplificado. El análisis filogenético de las secuencias nos confirmará el subtipo viral. Por último se realiza un marcaje citométrico de las células linfocitarias (CD4 y CD8) para determinar el grado de activación inmunológica y subpoblaciones (células vírgenes y memoria).

### RESULTADOS:

Doce pacientes fueron confirmados por HTLV-II de los cuales todos son subtipo HTLV-2b por WB y análisis filogenético. Por citometría se observa un aumento de la activación celular tanto de CD4 como de CD8 comparado con individuos sanos. El número absoluto de células CD4 es también menor. El porcentaje de células vírgenes es menor significativamente comparado con individuos sanos.

### CONCLUSIONES:

Las técnicas de laboratorio utilizadas para este estudio han permitido la confirmación de la infección por el HTLV, así como el tipaje, tipo II y subtipaje, subtipo b, de los virus. La población de usuarios de drogas por vía intravenosa con infección por VIH-1 presenta una proporción elevada de infección por el HTLV-IIb. Su sistema inmune está más activado y la reserva de células vírgenes es menor que los individuos sanos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 411

## ESTUDIO DE LA INFECCIÓN POR CHLAMYDIA TRACHOMATIS EN EL ÁREA DE ATENCIÓN PRIMARIA DEL DISTRITO SANITARIO DE LA COSTA DEL SOL MEDIANTE PCR

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: ALBA TRUJILLO, INMACULADA; TENA ROJAS, ELENA; VEGA JIMÉNEZ, DIEGO.

Centro de trabajo: HOSPITAL COSTA DEL SOL (MARBELLA)

Correo electrónico del primer firmante: alba\_truj@hotmail.com

### INTRODUCCION:

Chlamydia trachomatis es la infección de transmisión sexual bacteriana más frecuente tanto en los Estados Unidos como en otros países. La prevalencia de esta infección depende de las características de la población estudiada y de los factores de riesgo de la misma. La incidencia real en España no se conoce, y sólo existen datos relativos a las distintas regiones o centros. Los métodos tradicionales de detección están siendo sustituidos por otros más sensibles y específicos como las técnicas de biología molecular.

### Objetivo:

El objetivo de nuestro trabajo es determinar la incidencia de la infección genital por C. trachomatis en nuestra área de atención primaria desde la introducción de la PCR como método de detección (mayo de 2009 diciembre de 2010).

### MATERIAL Y METODOS:

Se estudiaron 1029 muestras (813 exudados cervicales, 85 exudados uretrales, 125 exudados vaginales y 5 muestras de semen) de pacientes atendidos en el Área de Atención Primaria del Distrito Sanitario de la Costa del Sol entre el 1 de mayo de 2009 y el 31 de diciembre de 2010. La población estudiada incluyó 90 varones (edad promedio de 37,9 años; rango entre 17 y 81 años) y 938 mujeres (edad promedio de 33,4 años; rango entre 16 y 66 años). El método de detección empleado fue una PCR con posterior hibridación en tira de nitrocelulosa (GenoQuick® CT - Hain Lifescience GmbH/Alemania).

### RESULTADOS:

Entre las mujeres, detectamos ADN de C.trachomatis en el 10,5% de las muestras (11,4% en ex.cervical y 4,8% en ex.vaginal) y, entre los hombres, en el 14,4% del total. No encontramos ADN entre las muestras de semen. Por grupos de edad y sexo, entre las mujeres había un 15% de positivos en menores de 20 años, 6,7% entre 20 y 29 años, un 10% entre 30 y 39 años, un 7,6% entre 40 y 49 años, y un 4,5% en mayores de 49 años;

entre los varones detectamos un 25% de muestras positivas en menores de 20 años (sólo 4 muestras), un 14,8% entre 20 y 29 años, un 11,5% entre 30 y 39 años, un 22,2% entre 40 y 49 años (sólo 9 muestras), y un 8,3% en mayores de 49 años.

#### CONCLUSIONES:

Hemos encontrado porcentajes de muestras positivas en un 10,5% de mujeres y un 14,4% de varones. Consideramos que nuestros datos serían elevados en la población general pero reflejan la importancia de una infección infravalorada hasta la introducción de las técnicas de biología molecular. El estudio de la población con riesgo de infectarse, así como la administración de tratamientos eficaces, son medidas necesarias para lograr una disminución de la transmisión, el control de la enfermedad y la prevención de las complicaciones derivadas de la misma.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 412

### CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DE LOS PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE LÚES ATENDIDOS EN LA CONSULTA DE ITS DEL HOSPITAL DE BASURTO ENTRE 2005 Y 2009

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Isabel Moreno, Begoña Fernández, Valen Esteban, Jose A. Álava, Guillermo Ezpeleta y Ramón Cisterna

*Centro de trabajo:* Hospital de Basurto

*Provincia:* Bizkaia

*Correo electrónico del primer firmante:* irentero72@yahoo.es

#### Introducción:

Las infecciones de transmisión sexual (ITS) son un importante problema de salud pública. Las ITS aumentan el riesgo de adquisición y transmisión del VIH, y al compartir vías de transmisión con el VIH y tener un menor período de latencia, sirven como indicadores de cambios en los comportamientos sexuales de riesgo.

#### Objetivo:

Conocer las características epidemiológicas de las personas diagnosticadas de Lúes primaria, secundaria y latente precoz en la Consulta de ITS del Hospital de Basurto entre los años 2005 y 2009.

#### Métodos:

Estudio descriptivo realizado entre los pacientes que acudieron a la Consulta de ITS del Hospital de Basurto por diversas causas; y a los cuales, se realizó entre otros un estudio serológico de Lúes. Se recogió en un cuestionario estandarizado variables sociodemográficas, existencia de pruebas previas, antecedentes de uso de drogas por vía parenteral (ADVP), orientación sexual, además de información clínica y de laboratorio. El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo con el programa SPSS PAWS Statistics versión 18.

#### RESULTADOS:

Entre 2005 y 2009 se diagnosticaron 53 nuevos casos de infección por Lúes: 40 (75,5%) hombres y 13 (24,5%) mujeres. 20 (37,8%) eran pacientes entre 25 y 35 años y 17 (32%) entre 36 y 45 años. 30 (56,6%) eran pacientes de nacionalidad española; 16 (30,2%) sudamericanos; 5 (9,5%) del resto de Europa y 2 (3,8%) africanos. 21 (39,6%) mantenía relaciones heterosexuales y 32 (61,7%) eran varones homosexuales. Las relaciones homosexuales entre varones fueron más frecuentes entre los pacientes de nacionalidad española; si bien, no hubo diferencias estadísticamente significativas con los pacientes de otras nacionalidades, probablemente por el número reducido de casos analizados. 15 (28,3%) pacientes presentaron otra ITS asociada en el mismo episodio, siendo la más frecuente la infección por *C. trachomatis* (7; 13,2%); y 26 (49,1%) tenían antecedentes de una ITS previa. 10 (18,9%) pacientes tenían una infección por VIH previa ya diagnosticada; y en 5 casos (9,4%) el diagnóstico de infección por el VIH coincidió con el de Lúes. Aunque un 22,6% de los casos contrajeron la Lúes manteniendo relaciones con su pareja estable, el elevado número de parejas sigue siendo un factor de riesgo para contraer la enfermedad.

#### CONCLUSIONES:

- 1) Aunque los resultados obtenidos en este estudio reflejan la situación epidemiológica de las personas que acuden a la Consulta de ITS del Hospital de Basurto, y no son representativos de la población general, subrayan la importancia del diagnóstico temprano de las ITS ya que suponen un marcador de riesgo para padecer infección por VIH.
- 2) La distribución por edades de los pacientes diagnosticados de Lúes aconseja reforzar la educación sexual en los jóvenes, advirtiéndoles del riesgo de ITS en las relaciones sexuales no protegidas.
- 3) Es necesario incluir protocolos completos de cribado para las distintas ITS en aquellos pacientes con conductas sexuales de riesgo.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 413

### EVOLUCIÓN DE LOS CASOS DE LÚES EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DEL HOSPITAL DE BASURTO

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Isabel Moreno, Begoña Fernández, M<sup>a</sup> Carmen Nieto, Guillermo Ezpeleta y

Ramón Cisterna

*Centro de trabajo:* Hospital de Basurto

*Correo electrónico del primer firmante:* irentero72@yahoo.es

#### Introducción:

La Lúes es una enfermedad infecciosa aguda o crónica cuyo agente causal es *Treponema pallidum*. Es una enfermedad venérea y de declaración obligatoria; siendo su mecanismo de transmisión el contacto directo con una lesión productiva. Recientes informes alertan de que el número de casos se ha duplicado en los últimos 10 años.

#### Objetivo:

Conocer en que medida ha repercutido el aumento del número de casos de Lúes en el Laboratorio de Microbiología del Hospital de Basurto.

#### Métodos:

Se compara el periodo 2004/2005 con el periodo 2009/2010 para averiguar en que medida ha aumentado la demanda de pruebas diagnósticas de Lúes (Syphilis Screen Recombinant® y Mercia® Syphilis M); determinar si hay un aumento en el número de nuevos casos de Lúes, recogiendo además algunas características de estos pacientes como sexo y edad.

#### RESULTADOS:

El número de pruebas realizadas en el periodo 2009/2010 (29.750) fue un 30,8% superior a la del periodo 2004/2005 (22.731). En los años 2004/2005 el 4,08% (929) de las pruebas de screening fueron positivas; mientras que en los años 2009/2010 lo fueron el 5,9% (1.769) ( $p < 0,05$ ). El número de pacientes que además presentaban una IgM positiva se multiplicó por 3 (74 pacientes en 2004/2005 frente a los 222 en 2009/2010). De los 296 pacientes con Lúes temprana, 229 (77,4%) eran hombres, y 67 (22,6%) mujeres; de los cuales, 52 (70,3%) eran hombres y 22 (29,7%) mujeres en 2004/2005, y 177 (79,7%) hombres y 45 (20,3%) mujeres en 2009/2010 ( $p = NS$ ). La edad media de los 282 pacientes con edad conocida fue 37,46 años (rango = 16-84); siendo la edad media de los hombres 38,24 años y la de las mujeres 34,93 años. El grupo de edad más frecuente fue el de 30-44 años (126; 44,7%) seguido del de 15-29 años (80; 28,4%) y el de 45-59 años (59; 20,9%). Entre los hombres, el grupo de edad más frecuente fue el de 30-44 años (101; 46,8%) seguido del grupo de 15-29 años (52; 24,1%) y del grupo de 45-59 años (23,6%); mientras que en las mujeres el grupo de edad más frecuente fue el de 15-29 años (28; 42,4%) seguido por el de 30-44 años (25; 37,9%) ( $p < 0,05$ ). Durante el periodo 2004/5, el 81,8% (54) eran pacientes < 45 años y el 18,2% (12) eran  $\geq 45$  años; mientras que en el 2009/2010, el 70,4% (152) eran < 45 años y el 29,6% (64) eran  $\geq 45$  años ( $p < 0,05$ ).

#### CONCLUSIONES:

- 1.- En los últimos 5 años ha aumentado la demanda de pruebas de screening de Lúes; así como el número de resultados positivos.
- 2.- Ha aumentado el número de sujetos de infección temprana por *T. pallidum*.
- 3.- La adquisición de la infección en las mujeres se da a una edad más temprana (15-29 años) que en los hombres (30-44 años).
- 4.- En el periodo 2009/2010 se observa un aumento en el número de casos en > 45 años respecto al 2004/2005.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 421

### PREVALENCIA DE GENOTIPOS DE VIRUS DE LA HEPATITIS C Y COINFECCIÓN CON VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH)

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Salvador Lorenzo, María José, María Domínguez, Bernardina; Clemente Aguilar, María del Mar; Navazo Pilo, María Cruz.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario de Salamanca

*Correo electrónico del primer firmante:* mariajo19@yahoo.es

#### Objetivos:

El virus de la hepatitis C (VHC) es un hepacivirus RNA, y es el principal causante de hepatitis infecciosa de origen parenteral en nuestro medio. Se considera que el 2-3% de la población estaría infectada por el VHC. Destaca su alta tendencia a la cronicidad, ya que al menos el 80-85% de las infecciones evolucionan de forma crónica. La infección crónica por el VHC se encuentra asimismo en el origen del 50-60% de los hepatocarcinomas. Dada su vía preferente de transmisión, es posible la coinfección con el VIH, de modo que la gran mayoría de los pacientes VIH+ usuarios de drogas por vía parenteral están también infectados por el VHC. La actividad de la infección se determina mediante el estudio de la carga vírica. La determinación del genotipo es importante en la infección por el VHC, ya que determina tanto la probabilidad de éxito terapéutico como el régimen de tratamiento indicado. El presente estudio determina la prevalencia de los diferentes genotipos, la carga vírica detectada al diagnóstico de la infección y la coinfección con VIH en pacientes con anticuerpos anti-VHC a lo largo de 3 años.

#### Material y métodos:

Se estudiaron muestras de 761 pacientes con anticuerpos anti-VHC, determinados mediante enzoinmunoanálisis (EIA) (Architect, Abbott Científica) y confirmados mediante inmunoblot (INNO-LIA, Siemens Healthcare). En todas las muestras se determinó el

genotipo mediante amplificación/hibridación (INNO-LiPA, Siemens Healthcare), y la carga vírica mediante transcripción reversa y RT-PCR (Cobas TaqMan, Roche). El diagnóstico de infección por VIH se realizó mediante EIA (Architect, Abbott Científica) y se confirmó mediante inmunoblot (INNO-LIA, Innogenetics).

#### RESULTADOS:

Los genotipos más frecuentes fueron el 1 (58,9%), el 3 (20,1%) y el 4 (13,1%). Dentro del genotipo 1, la distribución fue: genotipo 1a (62,3%), genotipo 1b (36,2%), genotipo 1 no subtipable (1,5%). Dentro del genotipo 3 predominó el 3a (96,1%), y dentro del 4 predominaron los no subtipables (99%). Los niveles de carga vírica de VHC fueron <500.000 UI/mL en el 39,5% de los casos, entre 500.000 y 5.000.000 UI/mL en el 44,6% y >5.000.000 UI/mL en el 15,9%. Se detectó coinfección con VIH en el 35,3% de los pacientes con hepatitis C. Dentro de los pacientes coinfectados por VHC y VIH predominaron los genotipos 1 y 4, mientras en genotipo 3 predominó en pacientes no coinfectados.

#### CONCLUSIONES:

La infección por el VHC es una infección frecuente en nuestro medio. Como en otros estudios realizados en España, predomina el genotipo 1, que constituye uno de los genotipos con peor pronóstico en cuanto a su respuesta al tratamiento. La carga vírica al diagnóstico fue muy variable, aunque un porcentaje importante presentó cargas notablemente altas (>5.000.000 UI/mL). Llama la atención el alto porcentaje de coinfección con VIH en pacientes VHC+, ya que prácticamente la tercera parte de los pacientes diagnosticados de infección por el VHC, eran además VIH+. Este alto porcentaje de coinfección está muy probablemente relacionada con la población estudiada, ya que una parte importante de los VHC+ eran pacientes con antecedentes de utilización de drogas parenterales. Es también destacable el predominio de los genotipos 1 y 4 en los pacientes coinfectados, mientras en los pacientes portadores solamente de infección por el VHC aumenta significativamente la frecuencia del genotipo 3.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 422

### PREVALENCIA DE HEPATITIS D EN PACIENTES HBsAg +.

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* María Domínguez, Bernardina; Clemente Aguilar, María del Mar; Salvador Lorenzo, María José; García Gómez, Paula.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario de Salamanca

*Correo electrónico del primer firmante:* bmariadominguez@yahoo.es

**Objetivos:** El virus de la hepatitis D (VHD) es un virus defectivo que requiere para su supervivencia la presencia de replicación activa del virus de la hepatitis B (VHB), ya que utiliza su cápside. La infección por el VHD puede tener lugar simultáneamente con el VHB, cuando la fuente de infección presenta una infección activa por ambos virus, o como sobreinfección, cuando un paciente con una hepatitis B se sobreinfecta con un VHD. Se trata de una infección que afecta de forma muy preferente a pacientes con antecedentes de uso de drogas por vía parenteral, y que está en franca disminución en nuestro medio. En el presente estudio se determina la infección por VHD en pacientes portadores de antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg+) en el Hospital Universitario de Salamanca a lo largo de 6 años (2005-2010).

#### Material y métodos:

Se estudiaron muestras de 113 pacientes HBsAg +, a los que se solicitó determinación de anticuerpos anti-VHD a lo largo de 6 años (Enero de 2005-Diciembre de 2010). La presencia de HBsAg se determinó mediante enzoinmunoanálisis (EIA) (Architect, Abbott Diagnóstica). La presencia de anticuerpos anti-VHD se determinó mediante EIA ((ETI-AB-DeltaK-2, Diasorin).

#### RESULTADOS:

Se determinó la presencia de anticuerpos anti-VHD en 113 pacientes HBsAg, en los que existía sospecha clínica o epidemiológica de coinfección o sobreinfección por el VHD. Se detectaron anticuerpos anti-VHD en 3 pacientes (2,7%). Los tres pacientes presentaban serología de hepatitis B compatible con un cuadro de hepatitis B crónica no replicativa, y uno de ellos presentaba además una mutación precore. Los tres pacientes eran asimismo VHC+, y dos de ellos eran además VIH+. Uno de ellos seroconvirtió a un perfil de hepatitis B pasada y perdió los anticuerpos anti-VHD tras recibir tratamiento antivírico frente al VHB. Las peticiones de uno de los tres pacientes procedían de la consulta de Digestivo, mientras los otros 2 procedían de un centro penitenciario.

#### CONCLUSIONES:

La infección por el VHD es infrecuente en nuestro medio. De acuerdo con los resultados observados, la prevalencia de anticuerpos anti-VHD está en torno al 2-3% de los pacientes HBsAg+. En los tres pacientes detectados, la infección por el VHD coincidía con una infección por VHC, VIH o por ambos. Este tipo de coinfección es especialmente prevalente en pacientes con antecedentes de uso de drogas parenterales. En los tres casos, la hepatitis B sobre la que se había instaurado la infección por VHD fue una hepatitis B con perfil serológico de hepatitis B no replicativa, confirmado mediante estudio de carga vírica de VHB (carga muy baja o <2.000 copias/ml en todos los casos). En uno de los pacientes, se detectó además una mutación precore del VHB.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 423

### PREVALENCIA DE INFECCIÓN POR PAPILOMAVIRUS EN UN ESTUDIO DE CRIBADO EN CASTILLA Y LEÓN.

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Clemente Aguilar, M<sup>a</sup> del Mar; Salvador Lorenzo, María José; García Ávila, Josefa; Corral Vicente, M<sup>a</sup> Soledad.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario de Salamanca

*Correo electrónico del primer firmante:* mariajo19@yahoo.es

#### Objetivos:

El virus del papiloma humano (HPV), está compuesto por DNA, es un virus epiteliotrófico que pueden desencadenar en neoplasias intraepitelial cervical (NIC) precursora de cáncer cervical. Se han descrito más de 100 genotipos, sólo alguno están implicados en patologías ginecológicas. Según su poder carcinogénico, se han clasificado en dos grandes grupos HPV-AR (alto riesgo entre los que se encuentran 16,18,31,33,32,51,66,58,70,etc.) y HPV-BR (bajo riesgo 6,11,61,62,42,72,84,54,81, etc.). En el presente trabajo se ha estudiado muestras recogidas a mujeres sanas que están dentro del programa de detección precoz de cáncer de útero de Consejería de Sanidad de Junta de Castilla y León en el periodo del 5 de noviembre del 2008 al 23 de diciembre del 2010 en el Hospital Clínico de Salamanca.

#### Material y métodos:

Se estudió un total de 22.269 muestras de escobillado cervical de mujeres en el periodo comprendido 5 de noviembre del 2008 al 23 de diciembre del 2010 en el Departamento de Microbiología del Hospital Clínico Salamanca. La extracción de DNA se realizó mediante BioSprint 96 (Qiagen, USA). La identificación de los genotipos se realizó mediante PCR e hibridación en microarrays (Genómica, España)

#### RESULTADOS:

De las 22.269 muestras estudiadas, 20.708 (92,99%) resultaron negativas a HPV, mientras que 1.561 (7,01%) fueron positivas. De las positivas 1.179 (75,5%) resultaron estar infectadas por virus de alto riesgo, destacando el genotipo 16 que representa un (18,8%), el genotipo 31 con un (13,7%), el 53 con (10%), 52 (8,4%), 51 (8,3%) y el 66 (7%). El genotipo 18 tuvo una prevalencia muy inferior (1,5%). 382 pacientes (24,5%) estaban infectadas solamente por virus de bajo riesgo, siendo el genotipo 61 (21,98%) el más destacado, seguido del 6 (11,2%), el 62 (10,7%), 42 (9,1%), 72 (8,3%). La prevalencia del genotipo 11 fue sólo del 3,4%.

#### CONCLUSIONES:

La infección por VPH es cada vez más frecuente en nuestro entorno. Esto ha hecho que se tomen medidas de prevención, tanto en la detección precoz, como en la vacunación. Los datos de prevalencia en población no seleccionada obtenidos en este estudio, son similares a los que se reflejan en otros estudios previos, en torno al 6-8%. Como se observa en la mayor parte de los estudios, predomina el genotipo 16, que es además uno de los más claramente vinculados a carcinoma de cuello de útero. Sin embargo, otros genotipos de alto riesgo, como el 31, 51, 52 y 53 muestran una prevalencia claramente superior al genotipo 18, que es el otro genotipo de alto riesgo incluido en las vacunas actuales junto con el 16. Algo similar ocurre en relación de los genotipos de bajo riesgo, ya que, de los incluidos en la vacuna, el genotipo 6 muestra una prevalencia relativamente alta, mientras el 11 no se encuentra entre los hallados con mayor frecuencia. En cambio, el genotipo 66 muestra una prevalencia que prácticamente dobla al que le sigue en frecuencia, el genotipo 6.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 425

### PREVALENCIA Y EPIDEMIOLOGÍA DEL VIRUS RESPIRATORIO SINCITAL EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DE HIERRO MAJADAHONDA

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Leticia Ramos Sierra, Maribel Basilio Díaz, M<sup>a</sup> Jose Fuentes Roman, Milagros Fernandez Navarro, Francisca Portero Azorín.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda

*Provincia:* Madrid

*Correo electrónico del primer firmante:* leticia\_ramos\_sierra@hotmail.com

#### RESUMEN:

PREVALENCIA Y EPIDEMIOLOGÍA DEL VIRUS RESPIRATORIO SINCITAL EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DE HIERRO MAJADAHONDA.

#### Introducción:

El Virus Respiratorio Sincital (VRS) es un Mixovirus, ARN de la familia Paramyxoviridae. Es un agente altamente contagioso que sobrevive horas en superficies no porosas, usando como puerta de entrada la conjuntiva ocular y las mucosas nasal y oral. El VRS es un patógeno ubicuo capaz de causar epidemias estacionales de bronquiolitis y neumonía, que afectan a todas las edades, especialmente a los niños pequeños.

#### Objetivo:

Estudiar la prevalencia y las características epidemiológicas de la infección del Virus Respiratorio Sincital en el año 2010 en nuestro hospital.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se estudian todas las peticiones de Virus Respiratorio Sincitial recibidas en el año 2010. Se obtienen un total de 706 muestras respiratorias. A las muestras remitidas se les realizó el test inmunocromatográfico rápido in vitro para la detección cualitativa del antígeno del VRS (NOW®RSV de Binax) en muestras de lavado nasal.

## RESULTADOS:

El resultado de las 706 muestras fue positivo para 197 (27,9%), 492 (69,7%) negativas y 17 (2,4%) dudosas.

La distribución por sexos: de las 197 muestras positivas 83 (26,8%) fue de mujeres, 114 (28,8%) de hombres. De las 492 muestras negativas 220 (71%) de mujeres, 272 (68,7%) de hombres y de las 17 muestras dudosas 7 (2,3%) de mujeres y 10 (2,5%) de hombres. Respecto a la procedencia de las muestras, 5 muestras proceden de Consultas, 143 de Hospitalización y 558 de Urgencias (de las cuales 551 son de Urgencias Pediátricas y 7 Urgencias Generales).

La distribución por edades: de las 197 muestras positivas 175 (31,5%) pertenecen a niños menores de 1 año, 20 (22,2%) a niños de 2 a 5 años y 2 (3,7%) a mayores de 16 años. De las 492 muestras negativas 365 (65,6%) pertenecen a niños menores de 1 año, 70 (77,8%) a niños de 2 a 5 años y 51 (94,4%) a mayores de 16 años. Con respecto a las 17 muestras dudosas 16 (2,9%) pertenecen a niños menores de 1 año y 1 (1,9%) a mayores de 16 años.

La distribución estacional: de las 197 muestras positivas 123 (47,3%) se obtuvieron en Diciembre, 38 (42,2%) a Enero, 21 (29,6%) a Noviembre, 7 (18,9%) a Febrero, 5 (7,7%) a Marzo, 2 (3,7%) a Abril, 1 (2,3%) a Octubre. De las 492 muestras negativas 125 (48,1%) pertenecen a Diciembre, 60 (92,3%) a Marzo, 51 (56,7%) a Enero, 50 (92,6%) a Abril, 49 (69,0%) a Noviembre, 41 (95,3%) a Octubre, 30 (81,1%) y las 86 restantes pertenecientes a los meses entre Mayo y Septiembre.

Con respecto a las 17 muestras dudosas 12 (4,6%) pertenecen a Diciembre, 2 (3,7%) a Abril, 1 (1,1%) a Enero y las 2 restantes a Octubre y Noviembre.

## CONCLUSIONES:

-Se obtiene una prevalencia de infección por Virus Respiratorio Sincitial de (27,9%).

-La inmunocromatografía para el Virus Respiratorio Sincitial es una técnica sencilla y rápida para el diagnóstico de la infección en muestras de lavados nasales.

-Tal y como se recoge en la literatura, la mayor incidencia se produce durante los meses fríos, observándose en nuestro hospital un pico en Diciembre.

-Existe una mayor incidencia en niños menores de 1 año.

-La prevalencia obtenida puede variar de un país a otro dependiendo de la humedad, temperatura y de los propios hábitos de higiene.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 430

## NIVELES DE VIREMIA DE CITOMEGALOVIRUS Y VIRUS DE EPSTEIN BARR EN PACIENTES HEMATOLÓGICOS

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Mar Pérez Paredes, Ana Pérez Folgada, Claudia Moure Gonzalez, Beatriz Rodríguez Alvarez, Eva Martínez Lemos, Joaquín Rubio Alarcón

Centro de trabajo: Hospital Do Meixoeiro. Servicio de Microbiología del Complejo Hospitalario Universitario de Vigo.

Provincia: Pontevedra

Correo electrónico del primer firmante: mar.perez.paredes@sergas.es

## INTRODUCCION:

El riesgo de infección por Citomegalovirus (CMV), es mayor en el trasplante alogénico. La reactivación del virus latente o las infecciones primarias en menor porcentaje, por este virus, se asocian con graves complicaciones pulmonares, digestivas, neurológicas, oculares, así como una elevada mortalidad. Estudios recientes sugieren que incluso cargas virales bajas pueden tener consecuencias adversas en este tipo de pacientes. El virus de Epstein Barr (EBV) se ha relacionado en pacientes con Trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) con síndromes mononucleósicos y linfoproliferativos, hepatitis aguda o crónica, neumonitis, e incluso a cuadros tumorales de tracto gastro-intestinal, cuello, cerebro y tórax. Los pacientes sometidos a este tipo de trasplante deben ser monitorizados virológicamente, con pruebas sensibles, específicas como las moleculares cuantitativas en tiempo real, para la detección de este tipo de infecciones.

## Objetivo:

Conocer, mediante técnicas moleculares, cualitativas y cuantitativas en muestras de plasma, la incidencia y el nivel de viremia por CMV y EBV, en enfermos hematológicos procedentes del Servicio de Hematología del Complejo Hospitalario Universitario de Vigo, con diferentes diagnósticos, incluyendo los trasplantados de progenitores hematopoyéticos.

## Material y métodos:

Del 1 de Enero de 2010 hasta 31 de Enero de 2011, se recibieron en nuestro laboratorio 502 muestras de plasma correspondientes a 59 pacientes hematológicos (36 mujeres y 23 hombres), con una edad media de 37,7 años (rango 8 a 79), con diagnóstico de leucemia (9), linfoma (10), síndrome mielodisplásico (1), aplasias medulares (1), mieloma múltiple (2), púrpura trombopénica idiopática (1), trasplantados de progenitores hematopoyéticos (33), desconocido (2), a los que se le hizo seguimiento virológico de infección, durante un período de al menos dos meses en TPH. En todas ellas la extracción

de ácido desoxirribonucleico (ADN) se llevó a cabo por duplicado, a partir de 300 y 1.100 µL de plasma, mediante MagNa Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit (MagNa Pure-Roche) y TNAI (Ampliprep-Roche) respectivamente. En las 502 muestras se realizó una PCR cuantitativa en tiempo real (CMV Quant Kit-Roche) para cuantificación (copias/mL) de ADN de CMV. Para descartar la presencia de ADN de EBV, a partir del extraído con mayor volumen (TNAI) se llevó a cabo una PCR convencional. Las muestras con resultado positivo a esta última determinación fueron sometidas a una segunda PCR cuantitativa en tiempo real (EBV Quant Kit-Roche), partiendo del extraído de 300 µL (MagNa Pure-Roche) utilizando la misma plataforma Light Cycler 2.0 que la utilizada en la prueba de PCR CMV cuantitativa.

## RESULTADOS:

De las 502 muestras estudiadas para detección de ADN de CMV, 471 (93,8%) tuvieron un resultado por debajo de 235 copias/mL (límite inferior de cuantificación). Se detectó ADN en 31 (6%) muestras, de ellas en 13/31 (41,9%) el número de copias detectado estaba entre 235 y 1000 copias/mL, en 12/31 (38,7%) entre 1000 y 3000 copias, 3/31 (9,7%) entre 3000 y 5000 copias, 3/31 (9,7%) entre 5000 y 14.000 copias/mL. El nº de pacientes con resultado positivo fue de 12 de los cuales 8/12 (66,6%) eran TPH, 1 (8,3%) leucemia linfática crónica (LLC), 1/12 (8,3%) linfoma no Hodgkin (LNH), 1/12 (8,3%) púrpura trombopénica idiopática (PTI), 1/12 (8,3%) mieloma múltiple (MM). En las mismas muestras se estudió ADN de EBV por PCR convencional obteniendo un resultado negativo en 481 (95,8%). El número de muestras con resultado positivo fue de 21 (4,2%) correspondientes a 9 pacientes. En estas últimas se realizó una segunda PCR cuantitativa en tiempo real. Los rangos de positividad fueron: 12/21 (57,1%) muestras el nº de copias detectado estuvo entre 229 y 1000 copias/mL; 9/21 (42,8%) entre 1000 y 3000 copias/mL. De los pacientes con resultado positivo 7/9 (77,7%) eran TPH, 2/9 (22,2%) LNH. No se encontraron coinfecciones por ambos virus.

## CONCLUSIONES:

Se encontró un elevado porcentaje de muestras con resultado negativo a CMV y EBV. Probablemente debido a los protocolos de terapia anticipada y profilaxis.

Los pacientes con diagnóstico de TPH presentaron mayores porcentajes de viremia que los diagnosticados de otro tipo de enfermedades hematológicas.

No se encontraron coinfecciones, por ambos virus.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 433

## ETIOLOGÍA DE LA BACTERIEMIA ASOCIADA A CATÉTER INTRAVASCULAR EN H.H.U.U.V. DEL ROCÍO

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Rosario Muñoz Linares, María Luisa Calle Lozano, Jorge Parrado Rubio

Centro de trabajo: H.H.U.U.V. DEL ROCÍO

Provincia: SEVILLA

Correo electrónico del primer firmante: charogus@hotmail.com

## Objetivo:

La primera causa de bacteriemia nosocomial es aquella asociada a la infección por el uso de catéteres intravasculares. En éste estudio analizamos la etiología de la bacteriemia por el uso de catéteres durante el período de un año, en nuestro hospital.

## Material y métodos:

Se estudiaron un total de 330 muestras procedentes de (uci, nefrología, hematología, medicina interna, áreas quirúrgicas, pediatría). Para ello se utilizó la técnica semicuantitativa de Maki (rodamiento de la punta de catéter de (3-5 cm) por una placa de Agar sangre) y otra cualitativa en caldo de cultivo (introduciendo la punta de catéter en el caldo), lo que indica la flora presente en el catéter.

## RESULTADOS:

Las muestras se recibieron: (76) uci de traumatología, (67) uci general, (30) medicina interna, (29) áreas quirúrgicas, (26) neonatología, (21) nefrología, (10) pediatría, (8) hematología y el resto de diferentes servicios.

Se realizaron los siguientes aislamientos: (121/330) s. epidermidis, (53/330) ac. baumannii, (25/330) K. pneumoniae, (20/330) s. aureus, (19/330) p. aeruginosa, (13/330) s. haemolyticus, (10/330) s. hominis-ho-min, (10/330) p. mirabilis, (9/330) s. capitis, (9/330) E. faecalis, (7/330) E. cloacae, (6/330) s. marcescens, (6/330) E. coli, (6/330) s. maltophilia, (5/330) E. aerogenes, (3/330) pseudomonas sp., (3/330) s. auricularis, (3/330) E. faecium, (2/330) K. oxytoca.

## CONCLUSIONES:

1.º- El servicio con mayor número de aislamientos fué UCI, seguido de M. Interna, Áreas Quirúrgicas y Nefrología.

2.º- El microorganismo aislado con mayor frecuencia fué s. epidermidis.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 434

## RENDIMIENTO NAT OBSERVADO EN UN CENTRO DE TRANSFUSIÓN

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: Marta Piñeiro, Ana Aldrey, Ana Baños, Sandra Costoya, Javier Fernández,

Lourdes López, María López, Dolores Pereiro, Antonio Pérez, Susana Pérez, Rosana Rego, Rosa Rodríguez

*Centro de trabajo:* Centro de Transfusión de Galicia

*Provincia:* La Coruña

*Correo electrónico del primer firmante:* marta.pineiro.freire@sergas.es

#### Introducción:

La introducción de técnicas basadas en la amplificación de ácidos nucleicos (NAT) para el escrutinio genómico de las donaciones de sangre se produjo en nuestro país a partir de 1999, con el objeto de prevenir la posibilidad de transmisión por transfusión de infecciones durante el período ventana serológico, en el que todavía no se detectan anticuerpos frente a los agentes virales.

El primer marcador introducido fue el ARN del virus de la hepatitis C, debido al prolongado período ventana de esta infección, la ausencia de inmunoprofilaxis y la alta capacidad infectiva de las donaciones en pre-seroconversión, especialmente a través de los plasmaderivados. Años después fueron introducidos el ARN del virus de la inmunodeficiencia humana y el ADN del virus de la hepatitis B, que aparentemente presentaban riesgo residual o rendimiento NAT teóricos inferiores.

Analizamos el rendimiento de estas técnicas tras 12 años de uso en nuestro Centro de Transfusión.

#### Materiales y métodos:

En nuestro Centro fueron empleadas las siguientes técnicas a partir de las fechas indicadas: Cobas® AmpliScreen HCV v2.0 desde Mayo de 1999, Cobas® AmpliScreen HIV-1 v1.5 y Cobas® AmpliScreen HBV fueron añadidas en Febrero de 2004, Chiron Procleix® Ultrio® sustituyó a las anteriores en Mayo de 2005, fue reemplazada por Cobas® TaqScreen MPX en Octubre de 2006 y usada hasta la actualidad. Ello supuso un total de 1.4 millones de donaciones analizadas para ARN de VHC y de 0.84 millones para ARN de VIH y ADN de VHB.

#### RESULTADOS:

Durante los períodos señalados fueron detectadas 5 pre-seroconversiones de VHC, 5 pre-seroconversiones de VIH, 4 pre-seroconversiones de VHB y 16 infecciones ocultas por VHB (OBI), en situación de infección crónica pero con muy baja carga viral, indetectable con técnicas clásicas. Ello supuso un rendimiento NAT observado, independientemente de la técnica empleada, expresado como donaciones detectadas en período ventana serológico por número de donaciones analizadas de: VHC=1/275.000, VIH=1/168.000, VHB=1/210.000, OBI=1/52.000.

#### CONCLUSIONES:

La introducción del escrutinio NAT en las donaciones de sangre fue promovida por la necesidad de detectar donaciones durante el período ventana serológico de la infección por VHC. Sin embargo, en la actualidad la gran mayoría de las detecciones corresponde a infecciones ocultas por VHB, de controvertida capacidad infectiva debido a su muy bajo nivel de viremia, y la principal importancia de esta tecnología concierne hoy a la detección de pre-seroconversiones de VIH, ya que el riesgo residual y el rendimiento NAT predicho (teóricos) parece que estaban subestimados para este virus.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

**Número: 441**

#### **METAPNEUMOVIRUS: VIRUS EMERGENTE ASOCIADO A INFECCION RESPIRATORIA AGUDA**

*Trabajo de:* MICROBIOLOGIA

*Autor/a/s:* MARTINEZ CAMEO NIEVES FELISA, FERNANDEZ LACRUZ PILAR, ARQUED RIBES MARIA JOSE, GRACIA PASCUAL CONCEPCIÓN, SABATÉ AINETO MARIA DOLORES, OMENACA TERES MANUEL

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO MIGUEL SERVET.SERVICIO DE MICROBIOLOGIA. ZARAGOZA.

*Correo electrónico del primer firmante:* nieves\_martinez@ono.com

#### Introducción:

El Metapneumovirus humano (MPVh) es un nuevo virus respiratorio descubierto en el año 2001 por Van den Hoogen y colaboradores en Holanda.

Pertenece a la familia Paramyxoviridae y subfamilia Pneumovirinae a la que también pertenece el Virus Respiratorio sincitial. Existen dos linajes genéticos diferentes y dentro de ellos dos subtipos de cada uno. Es un virus ARN, de hebra simple y polaridad negativa y afecta exclusivamente a humanos. La evidencia acumulada desde su descubrimiento sugiere que es uno de los mayores agentes etiológicos de infección respiratoria en niños.

#### Objetivos:

Nuestro objetivo es evaluar la incidencia de infección por metapneumovirus durante el año 2010 en nuestro medio, ver el promedio de edad de los niños afectados y conocer la distribución estacional que presenta.

#### MATERIAL Y METODO:

Durante el año 2010 se procesaron 1730 aspirados nasofaríngeos pertenecientes a niños con patología respiratoria, ingresados en el Hospital Infantil Miguel Servet de Zaragoza, siendo 1596 de ellos valorables para la técnica de IFD por presentar suficiente número de células en la preparación (>30 células epiteliales). A todos ellos se les realizó detección de

antígenos virales mediante la técnica de Inmunofluorescencia Directa, que utiliza Anticuerpos monoclonales específicos para los virus de la Gripe A y B (GA,GB), Parainfluenza 1, 2, 3 (P1,P2,P3), Adenovirus (ADV), Respiratorio sincitial (VRS) y Metapneumovirus humano (MPVh).

#### RESULTADOS:

De las 1596 muestras valorables, 447 fueron positivas para algún virus (28%), siendo 42 de ellas y positivas para metapneumovirus humano. Los porcentajes de las muestras positivas se detallan en la tabla siguiente:

Virus investigados	Casos +	%
Virus de la Gripe A	3	0,2
Virus de la Gripe B	1	0,06
Virus Parainfluenza 1	2	0,1
Virus Parainfluenza 2	0	0
Virus Parainfluenza 3	33	2,1
Adenovirus	50	3,1
Virus Respiratorio sincitial	316	19,7
Metapneumovirus	42	2,6
Total positivos	447	28,0
Negativos	1149	72,0

El Metapneumovirus ha sido el tercer agente aislado.

Según el estudio realizado observamos una distribución estacional (invierno-primavera) con predominio en los meses de febrero (17.5% de los casos positivos) y marzo (65%).

El promedio de edad de los niños infectados por metapneumovirus fue de 12,25 meses.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

**Número: 447**

#### **IMPORTANCIA DEL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LAS NEUMONÍAS ATÍPICAS EN EL ÁREA DEL LABORATORIO ICS DEL CAMP DE TARRAGONA**

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Figarola Cervera Roser, González Carballo Eva, Salamanca Cuadrado María Encarnación, Martínez March Rosa, Sancho Vilellas María Jesús

*Centro de trabajo:* Laboratori Clínic ICS Camp de Tarragona

*Correo electrónico del primer firmante:* ROSERFIGAROLACERVERA@HOTMAIL.COM

#### INTRODUCCION:

Las neumonías son una de las causas más frecuentes de consulta médica en el ámbito hospitalario. Según los gérmenes causantes y su sintomatología se pueden clasificar en neumonías típicas donde el principal germen es el neumococo que produce gran afectación pulmonar, y las neumonías atípicas causadas principalmente por virus y por las bacterias Mycoplasma, Chlamydia, Coxiella y Legionella que producen una afectación más generalizada.

El diagnóstico de las neumonías atípicas bacterianas es principalmente serológico, debido a la dificultad de crecimiento de las bacterias que las producen. Para ello se precisan dos extracciones sanguíneas separadas en un intervalo de tiempo de aproximadamente 3 semanas. En este período se valorará un aumento en el título de los anticuerpos que nos indicará si hay una infección actual.

#### Objetivo:

Nivel de cumplimiento en el envío de la segunda extracción sanguínea para la determinación de anticuerpos causantes de las neumonías atípicas.

#### METODOLOGIA:

Estudio retrospectivo realizado a partir de los registros informáticos del área de Inmunología del Laboratori Clínic del Camp de Tarragona en el período comprendido de Enero a Diciembre del 2010.

#### RESULTADOS:

Durante el año 2010 se remitieron 663 primeras extracciones para determinación de anticuerpos para neumonías atípicas de las que no se envió la segunda extracción en 427 (64.4%). En ninguna de estas 427 solicitudes se pidió determinación de antígenos en orina para neumococo o Legionella sólo registrándose en una de ellas un cultivo bacteriológico con resultado negativo. Por lo tanto de todas las muestras recogidas sólo se pudo hacer el diagnóstico correcto mediante la titulación de las dos muestras enviadas en 236 (35,6%).

#### Conclusión:

Debido a que es un diagnóstico que se obtiene cuando el paciente ya ha iniciado el tratamiento el médico pierde interés en el seguimiento de la muestra, no obstante pensamos que es necesario realizar un diagnóstico exacto junto a una historia clínica detallada que contribuirá a una mejora de la asistencia y a un uso adecuado de los antibióticos prescritos.

(\*) A rellenar por AETEL. El resumen se ajustará al marco establecido. No se admitirá más de una hoja

## ¿QUÉ HA REPRESENTADO LA INSTAURACIÓN DEL MADI-TOF EN EL ÁREA DE MICROBIOLOGÍA DEL LABORATORIO CLÍNICO ICS CAMP DE TARRAGONA

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Figarola Cervera Roser, González Carballo Eva, Paz Paz María Ángeles, Lozano Alzina Carlota, Sancho Vilellas M<sup>ª</sup> Jesús

*Centro de trabajo:* Laboratori Clínic ICS Camp de Tarragona

*Correo electrónico del primer firmante:* ROSERFIGAROLACERVERA@HOTMAIL.COM

### Introducción:

Una de las principales tareas de los laboratorios de microbiología es la identificación de los gérmenes causantes de infecciones. Para ello recurrimos a técnicas bioquímicas manuales o comerciales, sistemas semiautomáticos o a la biología molecular precisando todas ellas de tiempo para su procesamiento o de personal muy entrenado. Recientemente se ha incorporado la espectrometría de masas para la identificación microbiológica MALDI-TOF, MALDI del inglés Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization y TOF Time of Flight. Con esta técnica los gérmenes a identificar se colocan sobre un soporte metálico a los que se les añade una matriz que mediante su ionización, volatilización y posterior detección se crea un perfil proteico o huella química que es comparado con una base de datos, a partir de la cual se obtiene la identificación microbiológica. La técnica MALDI-TOF requiere muy poco entrenamiento para su realización, precisa de pocos consumibles y se obtienen resultados muy fiables en pocos minutos.

### Objetivo:

Impacto de la instauración de la tecnología MALDI-TOF para los técnicos de laboratorio (TEL) del Área de Microbiología del Laboratorio Clínic ICS Camp de Tarragona.

### Material y métodos:

Estudio piloto, prospectivo y observacional realizado desde la incorporación del aparato MALDI-TOF en abril de 2010 hasta diciembre de 2010 y comparado con el mismo período del año precedente. Los datos se obtuvieron a partir de los registros de calidad del Área de Microbiología en cuanto a la realización de identificación más antibiograma de muestras de heces con el sistema semiautomático WIDER® (Fco. Soria Melguizo) así como los facilitados por el departamento económico-financiero en cuanto al consumo de galerías identificativas API® (Biomerieux) y a la técnica de serogrupo de estreptococos  $\alpha$ -hemolíticos DiaMondial Strep Kit.

### RESULTADOS:

Con respecto a la realización de identificaciones a partir de muestras de heces con el sistema semiautomático WIDER en el primer período de estudio (año 2009) se realizaron 300 identificaciones mientras que en el segundo período (año 2010) se realizaron solamente 107 identificaciones lo que supone un descenso del 36%.

En cuanto a la realización de galerías bioquímicas API se detectó un descenso en el consumo de las galerías de identificación para levaduras (API 20 C AUX), 14 kits comprados en el 2009 respecto a ninguna compra en el 2010 (descenso del 100%), en el consumo de las galerías API Coryne, 14 compras en el 2009 respecto a 5 compras en el 2010 (descenso del 36%) y en las galerías API Strep, 8 compras en el 2009 respecto a 2 compras en el 2010 (descenso del 25%). La galería identificativa para Haemophilus API NH no tuvimos ningún cambio en cuanto a consumo. Por último en la técnica de serogrupo de estreptococo en el año 2009 se adquirieron 15 kits por 7 que se compraron en el año 2010 (descenso del 46,6%).

### CONCLUSIONES:

1. La implantación de la tecnología MALDI-TOF ha supuesto una disminución muy importante en la identificación microbiológica con técnicas bioquímicas manuales, galerías comerciales API, técnicas de serogrupo así como la utilización innecesaria de paneles semiautomáticos para la identificación de gérmenes comensales de muestras de heces. El empleo de esta nueva tecnología ha facilitado una redistribución de las tareas propias del TEL con lo que hemos disminuido la demora en la siembra de las muestras recibidas diariamente así como aumentado la frecuencia de procesamiento de otros cultivos, como las micobacterias o cultivos micológicos, que por falta de tiempo se hacían más esporádicamente.
2. Los resultados de este estudio preliminar nos hace plantear la posibilidad de realizar en un estudio futuro, cuando la tecnología MALDI-TOF esté totalmente implantada, donde se tengan en cuenta el global de las tareas del TEL así como el impacto económico &

### Introducción:

El uso indiscriminado e inadecuado de todo tipo de antimicrobianos favorece la resistencia bacteriana a los antibióticos. Esta resistencia se genera por la aparición de mutaciones cromosómicas y/o a la incorporación de material genético, principalmente por plásmidos, siendo éste el principal motivo de dispersión de las cepas resistentes. La producción de enzimas inactivantes o  $\beta$ -lactamasas, entre ellas, las de espectro extendido (BLEE), son el principal mecanismo de resistencia de las enterobacterias a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos. Estas enzimas son producidas más comúnmente por la Escherichia coli y la Klebsiella pneumoniae pero se presentan también en otras bacterias Gram negativas, siendo detectadas tanto a nivel hospitalario como extrahospitalario. Los organismos portadores de estas BLEE presentan resistencias a muchos antibióticos incluyendo todas las cefalosporinas y monobactámicos, hecho que complica el tratamiento de las infecciones que producen constituyendo un problema de salud pública muy grave.

### Objetivo:

Observar y valorar la incidencia de BLEE en Escherichia Coli y Klebsiella pneumoniae tanto en el ámbito hospitalario como extrahospitalario en el área de influencia del Laboratorio Clínic ICS Camp de Tarragona.

### Material y métodos:

Estudio retrospectivo realizado a partir del registro informático del Área de Microbiología en el período 2005-2010 en el que se incluyó todos las cepas de E. coli y K. pneumoniae aisladas de cualquier muestra teniendo en cuenta el origen hospitalario y/o extrahospitalario. La detección presuntiva de las BLEE se realizó con el sistema semiautomático WIDER® para Bacilos Gram Negativo (Fco.Soria Melguizo), siendo confirmado por la técnica clásica de aproximación de discos.

### RESULTADOS:

En el ámbito hospitalario con respecto a la incidencia de E. coli productora de BLEE en el año 2005 de 600 aislamientos de E. coli fueron productoras de BLEE 6 aislados (1%), en el año 2006 de 684 aislamientos fueron productoras de BLEE 18 aislados (2.6%), en el año 2007 de 982 aislamientos fueron productoras de BLEE 59 aislados (6%), en el año 2008 de 908 aislamientos fueron productoras de BLEE 67 aislados (7.4%), en el año 2009 de 1638 aislamientos fueron productoras de BLEE 77 aislados (8.5%) y en el año 2010 de 1457 aislamientos fueron productoras de BLEE 86 casos (5.9%).

Con respecto a la incidencia de K. pneumoniae productora de BLEE en el año 2005 y 2006 fue nula, en el año 2007 de 155 aislamientos de K. pneumoniae fue productora de BLEE un único aislado (0.6%), en el año 2008 de 168 aislamientos fueron productoras de BLEE 2 aislados (1.2%), en el 2009 de 284 aislamientos fueron productoras de BLEE 19 aislados (6.7%) y en el 2010 de 303 aislamientos fueron productoras de BLEE 30 aislados (9.9%). En el ámbito extrahospitalario con respecto a la incidencia de E. coli productora de BLEE en el año 2005 de 3538 aislamientos de E. coli fueron productoras de BLEE 23 aislados (0.6%), en el año 2006 de 3159 aislamientos fueron productoras de BLEE 64 aislados (2.0%), en el año 2007 de 3316 aislamientos fueron productoras de BLEE 84 aislados (2.5%), en el año 2008 de 3750 aislamientos fueron productoras de BLEE 158 aislados (4.2%), en el año 2009 de 4762 aislamientos fueron productores de BLEE 281 aislados (5.9%) y en el año 2010 de 4970 aislamientos fueron productoras de BLEE 333 aislados (6.7%).

Con respecto a la incidencia de K. pneumoniae productora de BLEE en el año 2005 y 2006 fue nula, en el año 2007 de 421 aislamientos de K. pneumoniae fue productora de BLEE un único aislado (0.2%), en el año 2008 de 474 aislamientos fueron productoras de BLEE 2 aislados (0.4%), en el año 2009 de 615 aislamientos fueron productoras de BLEE 8 aislados (1.3%) y en el año 2010 de 913 aislamientos fueron productoras de BLEE 21 aislados (2.3%).

### CONCLUSIONES:

1. La incidencia de E. coli portadora de BLEE se ha visto aumentada tanto en el medio hospitalario como en el extrahospitalario estableciéndose en el 2010 en un 5,9% y 6,7% respectivamente siendo la mayor prevalencia la muestra de origen urinario.
2. La incidencia de K. pneumoniae portadora de BLEE en el medio hospitalario ha incrementado su incidencia hasta el 9,9% en el 2010 debido principalmente al brote que hubo en la UCI, mientras que en el medio extrahospitalario se ha establecido la incidencia en un 2,3% siendo el origen principalmente urinario.
3. Es importante seguir insistiendo en la difusión de los patrones locales de resistencias bacterianas así como en la indicación correcta de los antibióticos para intentar disminuir la incidencia de cepas portadoras de BLEE.

## ESTUDIO SOBRE LA TÉCNICA DE HEPATITIS C EN EL CENTRO CANARIO DE TRANSFUSIÓN-ICHH

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Eliseo Alberto Padrón Zamora, Luz Sonia Estévez Tejera, Manuel Nelson Ramos Díaz, M<sup>ª</sup> Luz Olmedo Solla, Jesús M. González Delgado.

*Centro de trabajo:* Instituto Canario de Hemodonación y Hemoterapia

*Provincia:* Santa Cruz de Tenerife

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

## B-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) EN EL ÁREA DE INFLUENCIA DEL LABORATORIO CLÍNICO ICS CAMP DE TARRAGONA

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Figarola Cervera Roser, Paz Paz María Ángeles, Salamanca Cuadrado M<sup>ª</sup> Encarnación, Maján Martínez Montserrat, Sancho Vilellas M<sup>ª</sup> Jesús

*Centro de trabajo:* Laboratori Clínic ICS Camp de Tarragona

*Correo electrónico del primer firmante:* ROSERFIGAROLACERVERA@HOTMAIL.COM



## Introducción:

Los exámenes serológicos que se realizan en los centros de transfusión están legislados por el Real Decreto 1088/2005, del 16 de Septiembre del 2005, estableciendo los requisitos técnicos y condiciones mínimas de la hemodonación y los centros y servicios de transfusión, por el que pueden ser ampliados en cada centro según las necesidades y características del mismo.

## Objetivo:

ver el rendimiento de la técnica de screening rutinario de la hepatitis C en comparación con una técnica confirmatoria.

## MÉTODOS:

Las técnicas de screening:

VITROS HCV: es un inmunoensayo de quimioluminiscencia in vitro para la detección cualitativa de anticuerpos de hepatitis C en suero o plasma humano. Esta técnica utiliza tres antígenos codificados recombinantes del virus perteneciente a la región nuclear putativa del genoma y a las regiones putativas NS3, NS4 y NS5.

ORTHO HCV 3.0 ELISA test system save potenciado es un inmunoensayo enzimático cualitativo para la detección in Vitro de anticuerpos frente al virus de la hepatitis C en el suero o plasma humanos.

La técnica de confirmación:

RIBA HCV 3.0 SIA es un ensayo en tira inmunoabsorbente para la detección de anticuerpos frente a los virus de la hepatitis C en suero o plasma humanos.

## RESULTADOS:

AÑOS	2007	2008	2009	2010
resultados repetidamente reactivos	213	126	116	162
resultados positivos	35	46	36	35
resultados indeterminado	33	20	24	24
resultados negativos	145	60	56	103

\*datos obtenidos en el Centro Canario de Transfusión en sus dos sedes sitas en Sta. Cruz de Tenerife y Las Palmas de Gran Canaria.

## CONCLUSIONES:

Como queda demostrado con los datos presentados se ve que se confirman como positivas menos de la mitad de las unidades repetidamente reactivas, esto aunque desde un punto de vista parece que se desechan muchas unidades, hay que verlo desde el de la seguridad transfusional en el que estas técnicas abusan de sensibilidad empeorando su especificidad. Esto es porque se prefiere tener falsos positivos ante la posibilidad de tener falsos negativos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 453

## ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD A ERITROMICINA Y CLINDAMICINA DE STREPTOCOCCUS AGALACTIAE AISLADO EN MUJERES EMBARAZADAS

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: RAFAELA MANCHADO JIMENEZ, ANA LUISA MAÑAS MARCUELLO, SONIA HERRERO OTERO, ROSA GONZALEZ GONZALEZ, ELISABET GRENZNER MARTINELL

Centro de trabajo: LABORATORIO JUST OLIVERAS

Provincia: BARCELONA

Correo electrónico del primer firmante: rafimanchado@hotmail.com

## Introducción:

Streptococcus agalactiae (estreptococo grupo B) es uno de los principales agentes causales de sepsis neonatal y la aplicación de estrategias de prevención ha demostrado su eficacia disminuyendo notablemente el número de casos.

Actualmente se administra profilaxis antibiótica intraparto a las madres portadoras de este microorganismo. Los antibióticos de elección son penicilina o ampicilina, utilizándose eritromicina o clindamicina en caso de alergia a los betalactámicos.

Aunque no se conoce la existencia de cepas resistentes a betalactámicos, la descripción de resistencias a macrólidos y lincosamidas va en aumento.

## Objetivo:

Conocer los porcentajes de resistencia a eritromicina y clindamicina de las cepas de Streptococcus agalactiae aislados de gestantes durante las semanas 35-37 de embarazo, según el protocolo de cribado establecido.

## Material y métodos:

Durante el período abril 2009-mayo 2010 se estudió la sensibilidad a eritromicina y clindamicina de 140 cepas aisladas en el Laboratori Clínic L'Hospitalet, Área Metropolitana Sur, Atención Primaria, del Institut Català de la Salut.

Las muestras vagino-rectales se sembraron en medio de Granada, incubándose en anaerobiosis durante 24-48 horas. Streptococcus agalactiae presenta un pigmento anaranjado que permite su identificación.

El método empleado para el estudio de sensibilidad a eritromicina y clindamicina fue el de disco-difusión, según las normas del Clinical and Laboratory Standards Institute: siembra en agar Muller Hinton sangre de una suspensión bacteriana equivalente a McFarland 0.5 e incubación a 35±2°C, en atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub> durante 20-24 horas.

## RESULTADOS:

De las 140 cepas estudiadas, 104 (74.3%) fueron sensibles a eritromicina y clindamicina, 33 (23.6%) fueron resistentes a ambos antibióticos y 3 (2.1%) presentaron sensibilidad intermedia a eritromicina o clindamicina.

Entre las 33 cepas resistentes, tres mostraron el fenotipo inducible.

## CONCLUSIONES:

En nuestro medio se observa un elevado número de cepas resistentes a eritromicina y clindamicina.

En el caso de gestantes alérgicas a penicilina, debe estudiarse la sensibilidad a eritromicina y clindamicina, ya que constituyen el tratamiento alternativo en la prevención de la sepsis neonatal precoz por Streptococcus agalactiae.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 455

## COMPARACIÓN DE RESULTADOS: DE CUANTIFICACIÓN DE CARGA VIRAL POR MEDIO DE LAS TÉCNICAS DE SIEMENS Y ROCHE

Trabajo de: Microbiología.

Autor/a/s: TÂNIA FILIPA COLAÇO SANTOS, CATARINA DE AGUIAR SARAIVA RIBEIRO RUA, M<sup>a</sup> VICTORIA DE OLABARRÍA RUIZ, ELISA SUSANA RAMÍREZ MENDOZA

Centro de trabajo: UNILABS

Provincia: madrid

Correo electrónico del primer firmante: taniacolasantosmail.com

## INTRODUCCION:

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), perteneciente a la familia Retroviridae, es el responsable del desarrollo de SIDA. Su diagnóstico se basa en técnicas serológicas demostrando la presencia de anticuerpos frente al virus.

La carga viral o cuantificación del RNA del virus es el marcador de respuesta al tratamiento antirretroviral más sensible y fiable junto con el recuento de linfocitos CD4. Es la determinación básica para el seguimiento del paciente seropositivo ya que permite:

-Detectar el fracaso terapéutico con rapidez.

-Ayuda a modificar el plan terapéutico antes de que se desarrollen complicaciones clínicas

-Permite sospechar interacciones medicamentosas o una adhesión terapéutica insuficiente.

El método para determinar dicha carga viral es la PCR a tiempo real

All the phases of the ESR are measured thanks to an innovative optical system starting from the phase of the rouleaux formation, through the phase of sedimentation till the phase of red cells packing.

## Objetivos:

Determinar si existen diferencias significativas en la determinación de carga viral de VIH por dos aparatos distintos: COBAS® AmpliPrep/ COBAS® TaqMan® (Roche) y VERSANT® HIV-1 (kPCR) (Siemens)

## MATERIAL Y MÉTODOS:

COBAS® AmpliPrep/ COBAS® TaqMan® (Roche)

VERSANT® HIV-1 (kPCR) (Siemens)

100 muestras de pacientes con carga viral positiva

## RESULTADOS:

La carga viral se expresa en copias/mL o bien el logaritmo decimal (lg). Para nuestro estudio empleamos el término de lg y consideramos una diferencia significativa aquella que sea  $\geq 0.5$  lg. Hasta el momento se han estudiado 43 muestras con carga viral positiva determinada por el método de Roche. Cuando se realizó la determinación por Siemens, 27 de dichas muestras (62%) presentaron una carga viral que difería por lo menos en 0.5 lg.

## CONCLUSIONES:

A la vista de los resultados provisionales, existe una diferencia significativa en la determinación de la carga viral medida por ambos métodos

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 456

## UTILIDAD DEL SISTEMA MALDI-TOF PARA LA IDENTIFICACIÓN DE ANAEROBIOS

Trabajo de: Microbiología.

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: 457

### ESTUDIO POR TÉCNICAS INMUNOCROMATOGRÁFICA DEL VIRUS RESPIRATORIO SINCITAL Y EL VIRUS INFLUENZA EN POBLACIÓN INFANTIL DURANTE EL AÑO 2010 EN EL HUNSC

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* JAVIER LÁZARO TORRES DÍAZ - ROCIO RIVERA RUZ - BEATRIZ LEÓN GONZÁLEZ - JESÚS MIGUEL ODE FEBLES - FRANCISCA ALBACETE RODRIGUEZ

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

*Provincia:* SANTA CRUZ DE TENERIFE

*Correo electrónico del primer firmante:* javier-lazaro@hotmail.com

#### Introducción y Objetivos:

- Las infecciones causadas por agentes biológicos a cualquier nivel del aparato respiratorio están entre las más frecuentes. Estas afecciones según su topografía se diferencian dos grandes grupos: infecciones de vías respiratorias superiores y las vías respiratorias inferiores.

Nuestro estudio se centra en infecciones de vías respiratorias superiores, estudiando como causa viral el virus respiratorio sincital (VRS) y el influenza (GRIPE). Los pacientes tienen sus edades comprendidas entre los 0 - 4 años. En el año 2009 se declaró la pandemia de gripe H1N1 (influenza A) que continuó hasta el primer semestre del año 2010, centrando nuestro estudio en este último año. La única manera de detener un brote epidémico es aislar a los enfermos y por esto es importante un diagnóstico rápido utilizando técnicas rápidas de detección, como las que actualmente empleamos en nuestro hospital.

Los objetivos del estudio son determinar en que mes hay mayor prevalencia de estas afecciones, en que grupo de edades (0-4 años) hay más casos de enfermos y cual es el grado de coinfección del VRS y el Influenza entre estos pacientes.

#### Material y métodos:

- El estudio es prospectivo en el que se realizaron 1033 análisis de 656 pacientes en el 2010. Las técnicas rápidas para la detección directa y cualitativa del antígeno del VRS y los antígenos del Influenza A y B son inmunoanálisis cromatográfico DirectigenTM EZ RSV y DirectigenTM EZ Flu A+B (Becton, Dickinson and Company) para muestras de lavados y aspirados nasofaríngeos.

#### RESULTADOS:

- Durante el 2010 se realizaron los tests rápidos para la determinación del VRS y el Influenza A y B a 656 pacientes, de estos 393 (60%) son VRS negativos, 252 (38%) VRS positivo y 153 (23%) influenza negativos sin aparecer ningún caso positivo.

De los pacientes estudiados el 52% son niños y el 48% niñas: de los varones el 56% son VRS negativo, el 41% positivos con un 27% de Influenza negativo. El 64% del total de niñas son VRS negativos, 36% VRS positivos y 19% Influenza negativos. Ningunos de los pacientes dio un resultado Influenza positivo.

Por edades, agrupado en cinco grupos de 0, 1, 2, 3 y 4 años, fue el grupo de menor de un año los que tiene el mayor porcentaje de VRS negativo con un 53% (346 pacientes), siendo positivos el 34% (221 pacientes).

Según los meses del año estudiado, el número de test solicitados para el VRS e Influenza durante los meses de enero y diciembre es mucho mayor que el resto de los siguientes meses (enero 141/656 pacientes y diciembre 80/656 pacientes).

#### CONCLUSIONES:

- Tras este estudio anual:

- La coinfección no se dio en ningún caso, ninguno de los pacientes tuvo VRS positivo con Influenza positivo.

- El mayor número de solicitudes de estas dos técnicas fueron durante los meses de enero y diciembre.

- El mayor número de afecciones esta dentro del grupo de menor de un año, sin ser significativo entre sexos.

- En el estudio no se presentó ningún caso de Influenza positivo.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 461

### VALORACIÓN DEL USO DE LA TECNOLOGÍA DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS MALDITOF PARA EL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO.

*Trabajo de:* Microbiología.

*Autor/a/s:* Espigares Gallardo MA, Saez Melguizo MF, Calvo Leiva V, Moreno Puertas MI

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO SAN CECILIO

*Provincia:* GRANADA

*Correo electrónico del primer firmante:* angelinespigaes@hotmail.es

#### Introducción:

El urocultivo representa un importante volumen de trabajo del total diario realizado en el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario San Cecilio de Granada, por lo que sería interesante valorar el ahorro en recursos de distintos esquemas diagnósticos de la infección del tracto urinario. Entre otras opciones, existe la posibilidad de hacer un diagnóstico etiológico a través de la espectrometría de masas MS MALDITOF.

#### Objetivo:

Determinar la utilidad de la tecnología MALDITOF (matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight) como método rápido para la identificación de microorganismos causantes de infección urinaria aislados a partir de urocultivos positivos, así como comparar posibles ahorros en recursos con otros esquemas diagnósticos.

#### MATERIAL-Métodos:

Se analizaron 308 urocultivos positivos recogidos entre los meses de julio-septiembre de forma paralela comparando los resultados obtenidos por espectrometría de masas vs sistema automatizado WIDER®. Posteriormente, conociendo los costes unitarios de cada uno de los fungibles utilizados en los distintos esquemas diagnósticos, se calculan los costes totales consumidos en cada rama: Diagnóstico etiológico a través de tecnología MALDITOF, versus diagnóstico por el sistema automatizado WIDER®.

#### RESULTADOS:

La distribución de la muestra analizada estuvo compuesta por 234 bacilos gramnegativo (BGN) (76%), y 74 cocos grampositivo (CGP), dentro de la cual, la correlación total de resultados obtenidos entre ambos esquemas diagnósticos fue del 95.5%, ( $k=0.929$ ). Para BGN, el porcentaje de concordancia de resultados fue del 97.0% ( $k: 0.933$ ), y para CGP del 90.5% ( $k:0.881$ ). En el caso de los CGP, las identificaciones concordantes fueron: 26 casos de *Enterococcus faecalis*, 4 casos de *Staphylococcus aureus*, 3 de *E. faecium*, 18 *S. coagulans* negativo (SCN) no-saprophyticus, 2 *S. saprophyticus*, 13 *Streptococcus agalactiae*, y 1 *St. pyogenes*; los 7 casos (9.5%) discordantes, lo fueron a nivel de especie (todos SCN no saprophyticus). Dentro de los BGN, hubo concordancia de resultados en 133 casos de *Escherichia coli*, 27 *Klebsiella pneumoniae*, 20 *Proteus mirabilis*, 15 *Kl. oxytoca*, 11 *Pseudomonas aeruginosa*, 4 *Citrobacter koseri*, 2 *C. freundii*, 2 *Acinetobacter baumannii*, 1 *Salmonella* sp, 1 *Enterobacter aerogenes*, 1 *Morganella morganii*, 1 *E. cloacae*, y 1 *P. putida*. Sólo hubo ausencia de correlación en la identificación en 7 casos (3.0%): 5 *Kl. oxytoca* por wider, 3 se identificaron como *Kl. pneumoniae*, 1 como *C. freundii* y 1 como *E. cloacae* por Mald; 1 *P. mirabilis* como *M. morganii* y 1 *C. freundii* como *C. koseri*. Respecto al ahorro en recursos, la utilización del esquema basado en MALDI supuso una reducción del 25.3% respecto al esquema basado en el sistema automatizado Wider. Respecto al coste del personal técnico de laboratorio, el esquema de trabajo basado en el uso del espectrómetro de masas supone una reducción del 50% respecto al tiempo necesario para el diagnóstico de infección de orina a través de la tecnología WIDER, ahorro que corresponde a 677,6 euros del primero con respecto al segundo.

#### CONCLUSIONES:

La concordancia de resultados obtenidos a través de la tecnología de espectrometría de masas MALDITOF se encuentra en un rango estadístico excelente (coeficiente kappa), permitiendo un importante ahorro para el diagnóstico de infección del tracto urinario.

# MISCELÁNEA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 083

## CUMPLIMENTACION DE LA SOLICITUD ANALITICA. ERRORES PREANALITICOS

*Trabajo de:* Inmunología.

*Autor/a/s:* Antonia Maria Moreno Casares, Eva Maria Gomez Moreno, Francisca Moreno Casares, Maria Jesus Ureña Castro, Alba Martinez Chamorro, Miguel Angel Lopez Nevot

*Centro de trabajo:* Hospital Virgen de las Nieves

*Provincia:* Granada

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

### INTRODUCCION:

La petición es el comienzo del proceso del laboratorio y es la acción mediante la cual se provee al laboratorio de la información necesaria para llevar a cabo su trabajo. De su calidad va a depender en gran medida el resto del proceso.

Es imprescindible que en la solicitud se encuentren correctamente cumplimentados varios tipos de datos:

- Identificación de la petición
- Datos de filiación del paciente
- Datos clínicos y demográficos
- Datos administrativos de la solicitud
- Pruebas o estudios solicitados

### MATERIAL Y METODOS:

Contamos con todas las peticiones de VIH y Hepatitis C recibidas durante un año en el laboratorio de especialidades del Hospital Virgen de las Nieves de Granada más concretamente en el laboratorio HLA. En ellas haremos un recuento de todos los datos que deberían ir bien cumplimentados y no lo están.

### RESULTADOS:

A parte de tener solicitudes correctamente cumplimentadas, nos encontramos con multitud de errores en la cumplimentación de las solicitudes analíticas. Los más comunes son:

- Sin Historia Clínica.
- Sin médico.
- Sin procedencia.
- Sin fecha
- Sin firma del facultativo.
- Letra ininteligible.

### CONCLUSIONES:

La solicitud en papel resulta relativamente sencilla desde el punto de vista del clínico, pero necesita una transcripción de la información al sistema informático de laboratorio produciéndose, en ocasiones, errores de transcripción.

Las etiquetas identificativas tanto para pacientes como para facultativos es una manera de evitar mayores problemas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 222

## INDICADORES DE CALIDAD EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* MARIA DEL MAR RUIZ GONZALEZ.CARMEN ROLDAN AYALA.ISABEL ROSADO MONTERO.MARIA ANGELES JIMENEZ RASTROJO.MARIA DEL MAR ALONSO DURAN

*Centro de trabajo:* HOSPITAL VIRGEN MACARENA

*Provincia:* SEVILLA

*Correo electrónico del primer firmante:* mariamar2569@hotmail.com

### INTRODUCCION:

Estudio realizado en el laboratorio de urgencias de bioquímica y hematología. Los indicadores de calidad parecen estar reservados a áreas de hospitalización donde la atención con el paciente es más directa y continua, pero entendemos que en el laboratorio de urgencias es una herramienta eficaz.

### METODOLOGIA:

Se creo un grupo de mejora de cada una de las unidades, un equipo multidisciplinar donde participaron enfermero, técnico de laboratorio, médicos, y auxiliares de enfermería. En la primera fase de valoración y diagnostico determinamos aquellos indicadores sobre los que empezar a trabajar. En una segunda fase de planificación se elaboraron las fichas de cada uno de ellos y se planifico la implantación y operativización de cada uno de ellos. En la tercera fase de implantación se pone en marcha el plan. En la cuarta fase se evalúa el resultado de los mismos. Los indicadores implantados son:

- 1.—Anomalías en las peticiones de urgencias.
- 2.—Fallo de soporte informático y eléctrico.

### RESULTADOS:

Se miden cada uno de los indicadores, se amplía la zona de implantación dado el resultado obtenido. La implicación de todos los profesionales es progresiva, de manera que finalmente todos participan. La monitorización de estos indicadores permitirá establecer un estándar y poner en marcha plan de mejora en el caso en que sea necesario. Los indicadores de calidad deben estar presentes en todas y cada una de las actividades que realizamos. Estos nos van a permitir incidir directamente en la seguridad de los cuidados prestados. Los resultados obtenidos por meses a final de 2009 y principio de 2010 son:

	OCT	NOV	DIC	EN	FE	MZ	AB
1	1077	4421	2119	1791	1744	2481	1824
2	0	4	5	4	1	0	0

### CONCLUSIONES:

La implantación de indicadores de calidad en el laboratorio de urgencias nos permite monitorizar y medir la calidad de los servicios prestados.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 262

## RELEVANCIA DEL USO DE MEDIOS SIN HEPES EN TRATAMIENTOS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

*Trabajo de:* Salud Pública.

*Autor/a/s:* María Testillano, David Agudo, Marina Aragones, Fernando Bronet

*Centro de trabajo:* IVI Madrid

*Provincia:* (Madrid)

*Correo electrónico del primer firmante:* maria.testillano@ivi.es

### Introducción y Objetivos:

El tampón hepes mantiene estable el pH de los medios de cultivo fuera de sus condiciones óptimas de trabajo (CO<sub>2</sub> y T°), permitiéndonos trabajar fuera del incubador, donde se produce el desarrollo embrionario, sin embargo el hepes puede ser perjudicial para los ovocitos y embriones, debido a su efecto tóxico a nivel celular.

En IVI Madrid hemos querido comparar, si los resultados de los tratamientos de Reproducción Asistida difieren al trabajar con medios con o sin hepes.

### Material y métodos:

Estudio prospectivo realizado desde noviembre 2010 hasta febrero 2011 en el que hemos incluido dos grupos en función del origen de ovocitos: ovocitos donados y ovocitos propios. De ovocitos donados se han realizado 198 casos (86 sin hepes frente a 112 con hepes), y 166 casos de pacientes con ovocitos propios (78 sin hepes frente a 88 con hepes). En el grupo de ovocitos propios hemos hecho la siguiente clasificación: <35, 35-38 y >38 años. En las pacientes <35 años incluimos 40 casos (19 sin hepes y 21 con hepes), en las de 35-38 tenemos 83 casos (39 sin hepes y 44 con hepes) y en las de >38 años, 43 casos (20 sin hepes y 23 con hepes)

### RESULTADOS:

El grupo de ovocitos donados presenta sin hepes un 61.63% de tasa de gestación clínica (TGC) y una tasa de implantación (TI) de 38.41%, y con hepes una TGC de 59.82% y una TI de 42.18, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. En el grupo de ovocitos propios, conseguimos con medios sin hepes una TGC de 46.15% y una TI de 30.14% frente a un 38.64% y un 27.88% de TGC y TI con medios con hepes respectivamente, no existiendo diferencias estadísticamente significativas.

Al diferenciar por edades en el grupo de ovocitos propios, observamos que en pacientes <35 años sin hepes la TGC es de 63.16% y la TI es de 41.67% frente a 57.14% de TGC y TI de 38.46% con hepes. En las pacientes con edades comprendidas entre 35 y 38 años sin hepes, la TGC es de 41.03% y la TI de 27.4% frente al 36.36% de TGC y 29.27% de TI con hepes. Y por último en las pacientes >38 años, sin hepes la TGC es de 40% y la TI de 24.32% frente a un 26.09% y 15.91% con hepes de TGC y TI respectivamente. Aunque en pacientes >38 años los resultados clínicos son superiores en el grupo sin hepes no existen diferencias estadísticamente significativas en ningún grupo de edad.

### CONCLUSIONES:

Tanto en los casos de ovocitos donados como en los de ovocitos propios, con medios con y sin hepes, los resultados de gestación clínica e implantación que obtenemos son similares, por lo tanto concluimos en estos casos que la presencia de hepes no ha influido negativamente.

Al analizar las pacientes de ovocitos propios por edades, encontramos que los resultados de todas ellas no tienen diferencias significativas según el medio, ya sea con o sin hepes. En las pacientes >38 años obtenemos que los resultados de gestación clínica e implantación son mejores con medio sin hepes, aunque no podemos afirmar que exista diferencia significativa, si hay una tendencia de mejora en estas pacientes. En posteriores estudios, tendremos un mayor número de casos y podremos confirmar estos datos.

## UNA EXPERIENCIA EN FORMACIÓN : CREACIÓN DEL GRUPO DE TUTORES TÉCNICOS

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* Encarnación Sanz García-Soldado

*Centro de trabajo:* Hospital Príncipe de Asturias, SERVICIO DE LABORATORIOS.

*Localidad:* Alcalá de Henares

*Provincia:* MADRID

*Correo electrónico del primer firmante:* esanz.hupa@salud.madrid.org

### Introducción:

En el año 2007 fui elegida Coordinadora de Laboratorios. Uno de mis primeros objetivos fue conseguir que en nuestros laboratorios se formaran alumnos en prácticas del Módulo Superior de Diagnóstico clínico. Lo conseguí tres años después. Este tiempo me sirvió para realizar una mejor evaluación de las necesidades formativas tanto en la Unidad de Docencia de nuestro hospital con respecto a mis colegas de profesión, como detectar las necesidades formativas de los propios TSDC. En el año 2010 se forma el Grupo de Tutores, constituido por Técnicos Superiores de Diagnóstico Clínico cuyos miembros representan a todos los laboratorios. El diseño, formación, estructura, objetivos del grupo y criterios de selección de sus miembros integrantes es de lo que trata este trabajo y de la evaluación un año después de los logros y los objetivos conseguidos. El Grupo de Tutores está orientado a una tarea principal y unos objetivos a corto y medio plazo. A corto plazo el objetivo principal fue y es, la acogida y formación práctica de los alumnos del Módulo Superior de Diagnóstico Clínico de Formación Profesional y a largo plazo, como objetivos secundarios, la formación teórica y práctica mediante sesiones técnicas, talleres y organización de cursos relacionados con nuestras especialidades.

### Objetivos:

Diseño del Grupo de Tutores. Composición. Nº de miembros que lo integran, criterios de selección en base a representatividad, características personales como motivación por la docencia, capacidad teórica y práctica para ejercerla, experiencia, habilidades comunicativas y empatía.

Normativa y funcionamiento. Una vez establecido el grupo, elaboración de normas abiertas y explícitas que regirán el funcionamiento del Grupo de Tutores. El objetivo de este tipo de normas es no constreñir la evolución del grupo hacia otras metas y objetivos.

### Material y métodos:

#### REUNIONES Y ENTREVISTAS

- 1- Se estableció un calendario de reuniones periódicas informativas referentes a la formación del Grupo solicitando la colaboración de los técnicos interesados en el proyecto.
- 2- Los candidatos interesados en el proyecto fueron entrevistados e informados de los propósitos esenciales y objetivos secundarios.
- 3- Formación del Grupo de Tutores

### RESULTADOS: y CONCLUSIONES:

Un año después, el Grupo ha crecido y cuenta con 10 miembros. Se han aprobado las normas que rigen su funcionamiento, se han establecido nuevos objetivos y nuevos retos. El Grupo ha conseguido madurez, reconocimiento, cohesión entre sus miembros, motivación para la consecución de los objetivos e identidad como grupo de trabajo.

## EVALUACIÓN DE LAS CONDICIONES DE TRANSPORTE DE MUESTRAS REMITIDAS DESDE CENTROS PERIFÉRICOS DE EXTRACCIÓN

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* Hernández Martín, Elena; Sagrado Arroyo, María Montserrat; Quero Lahoz, Rosa; Caballero Rodrigo, Teresa; Fanlo Lozano, Antonio.

*Centro de trabajo:* Laboratorio de Análisis Clínicos. Hospital Ernest Lluch. CALATAYUD (Zaragoza)

*Correo electrónico del primer firmante:* elenah1977@hotmail.com

### RESUMEN:

Las condiciones de transporte de las muestras extraídas en centro periféricos puede condicionar los resultados de los análisis realizados a dichas muestras. Por ello, tras la implantación en nuestro Centro de un procedimiento de transporte de Muestras, se revisan los resultados obtenidos.

Se evalúa el período comprendido entre el 01/04/2009 y el 10/02/2011. Los datos fueron registrados diariamente en una base de datos de Microsoft Access y se han analizado con Microsoft Excell. Los indicadores escogidos (estándar 95 % para indicadores 1 a 4) son: 1.- Recepción del contenedor dentro del horario establecido para cada centro 2.- Ausencia o presencia de incidencias de temperatura en el transporte. 3.- Contenedor limpio (ausencia de vertido de material biológico por rotura o apertura accidental). 4.- Contenedor ordenado (ahorro de tiempo entre la recepción y el tratamiento de la muestra). 5.- Nº de peticiones y

promedio de peticiones por contenedor.

Se recibieron muestras de 19 Centros, con un periodicidad variable entre 1 día y > 90 días.

La tabla muestra los principales datos obtenidos:

	Contenedores transporte	% En hora	% Tª correcta	% limpios	% ordenados	Nº total peticiones	Promedio peticiones
Centro 1	466	100	90,77	99,57	99,36	16181	34,8
Centro 2	461	100	95,01	99,57	98,92	10285	22,3
Centro 3	187	99,46	90,37	95,16	98,93	4816	25,9
Centro 4	185	98,37	89,73	95,14	88,11	6492	34,8
Centro 5	185	100	89,73	98,38	97,84	5484	29,6
Centro 6	184	99,45	91,85	100	96,74	3322	18,1
Centro 7	184	100	78,8	77,17	94,02	3336	18,1
Centro 8	181	100	0	94,48	100	1680	9,3
Centro 9	181	98,34	90,61	99,45	97,24	2013	11,1
Centro 10	105	97,14	73,33	81	92,38	4005	38,5
Centro 11	101	99	86,96	95,05	95,05	575	15,7
Centro 12	98	97,96	88,78	97,96	97,96	2753	28,1
Centro 13	92	100	94,57	96,74	100	1410	28,1
Centro 14	92	100	50	79,35	95,68	1328	14,4
Centro 15	92	100	86,96	98,91	100	1442	15,7
Centro 16	91	100	89,01	100	89,01	780	8,6
Centro 18	18	100	0	100	100	95	5,6
Centro 20	7	100	0	100	100	41	5,9
Totales	2910	99,52	79,61	97,08	95,63	66038	22,7

En general, los resultados obtenidos muestran un elevado cumplimiento de las condiciones de transporte. Las incidencias en el horario de recepción, % contenedores limpios y % contenedores ordenados cumplieron con los estándares establecidos. Las incidencias derivadas de la Tª de transporte de la muestra hacen referencia en la mayoría de los casos a deficiencias de funcionamiento del datalogger o a ausencia del mismo, lo que impidió verificar la Tª de transporte (todos los contenedores contenían placas de refrigeración). Los centros no pertenecientes al Servicio Aragonés de Salud o aquellos que envían muestras de forma esporádica son los que presentan los principales incumplimientos en este punto.

## INCIDENCIAS PREANALÍTICAS EN MUESTRAS DE CENTROS PERIFÉRICOS DE EXTRACCIÓN

*Trabajo de:* Bioquímica.

*Autor/a/s:* Sagrado Arroyo, María Montserrat; Hernández Martín, Elena; Ramo Ortiz, Carmen; Bernad Martín, Coral; Alonso Gregorio, Eduardo

*Centro de trabajo:* Laboratorio de Análisis Clínicos. Hospital Ernest Lluch. CALATAYUD (Zaragoza)

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

### RESUMEN:

Dentro del proceso de Acreditación del Laboratorio, en mayo de 2007 se comenzó el registro sistemático de las incidencias de preanalítica detectadas en las muestras recibidas desde los Centros periféricos adscritos a nuestro laboratorio.

Para ello, se diseñó una base de datos en Microsoft Access en la que se recogen 13 criterios de rechazo (total o parcial) de muestras descritos en los Procedimientos del Laboratorio y se procedió al registro diario de dichas incidencias. El tratamiento de los datos se ha realizado con Microsoft Excell. El recuento de muestras recibidas procede de los datos de Actividad del Laboratorio.

Los resultados obtenidos se muestran en las siguientes tablas:

	2007	2008	2009	2010	TOTAL
Incidencias	401	1079	1264	2534	5278
Muestras	40071	66511	60225	69792	236599
% incidencias	1,0	1,6	2,1	3,6	2,2

CRITERIO	2007	2008	2009	2010	TOTAL	%
Ausencia muestra	277	803	1063	1223	3366	63,8
Error etiquetado	8	26	65	20	119	2,3
Error identificación espécimen	8	20	19	23	70	1,3
Error volante petición	28	24	24	64	140	2,7

Fuera horario de recepción	32	18	9	8	67	1,3
Temperatura transporte incorrecta	32	18	8	9	67	1,3
Espécimen inapropiado	5	133	42	1165	1345	25,5
Muestra insuficiente	2	13	8	7	30	0,6
Envase roto o defectuoso	6	19	15	7	47	0,9
Envase roto en el Laboratorio	0	0	0	0	0	0,0
Muestra de plasma coagulada	0	0	0	0	0	0,0
Muestra de sangre coagulada	0	0	0	1	1	0,0
Se requiere extracción hospitalaria	3	5	11	7	26	0,5

## CONCLUSIONES:

1ª.- El porcentaje de incidencias registradas ha aumentado de forma ininterrumpida a lo largo del tiempo.

2ª.- Las incidencias más numerosas son, con diferencia, la ausencia de muestra y la muestra inadecuada, que representan, en el global, el 90 % de las incidencias.

3ª.- Las incidencias ligadas a las condiciones del transporte y conservación de la muestra representan un porcentaje muy pequeño del total, frente a aquellas derivadas de los procesos de petición y extracción. En 2010 se comenzó a registrar como muestra inadecuada la recepción de tubos de muestra innecesarios, lo que explica el fuerte incremento registrado para dicha causa y el incremento total en el año 2010.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 335

## EVOLUCIÓN ANUAL DEL INDICADOR "MUESTRA NO RECIBIDA"

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Sagrado Arroyo, María Montserrat; Hernández Martín, Elena; De la Fuente San Juan, Ana María, Gaspar Ibáñez, Lucía Inmaculada; Alonso Gregorio, Eduardo

Centro de trabajo: Laboratorio de Análisis Clínicos. Hospital Ernest Lluch. CALATAYUD (Zaragoza)

Correo electrónico del primer firmante: quininomon@hotmail.com

## Objetivo:

La ausencia de muestra para el análisis es la primera causa de incidencia preanalítica en nuestro laboratorio desde que en 2007 comenzó el registro sistemático de dichas incidencias.

## MATERIAL Y METODOS:

Con objeto de conocer el tipo y cantidad de muestras que no se reciben en el Laboratorio, en Noviembre de 2009 se diseñó un procedimiento para su registro en el Sistema Informático del Laboratorio (SIL), mediante el uso de pruebas indicadoras de ausencia de las distintas muestras, estableciéndose como estándar de calidad una ausencia de muestras no superior al 3%. De acuerdo con el procedimiento, el Personal Técnico que realiza la revisión de muestras anota en el volante de petición las ausencias detectadas, y las pruebas indicadoras son registradas en el SIL por el Personal Administrativo.

Los datos mensuales se extraen de la estadística de actividad del Laboratorio y, finalmente, se procesan mediante Microsoft Excell.

## RESULTADOS:

En la siguiente tabla se presentan (expresados como % de ausencia de muestra) los resultados obtenidos para cada mes del año 2010 y tipo de muestra:

	MESES												Promedio
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
HbA1c	0,2	0,2	0,5	0,0	0,0	0,9	0,4	0,2	0,0	0,4	0,1	0,2	0,3
Serología	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0
Coagulación	3,1	2,9	3,2	3,1	3,4	1,7	3,8	4,8	2,4	2,7	3,9	3,8	3,2
Hematología	1,3	0,5	0,6	0,8	0,5	0,8	1,5	2,1	1,0	1,2	0,9	1,4	1,1
Orina 24 h	33,3	34,5	26,5	61,1	0,0	2,5	8,0	24,0	10,3	0,0	4,2	4,2	17,4
Orina	5,1	4,3	4,4	5,0	4,5	4,1	4,5	5,9	4,7	4,4	4,9	5,4	4,8
Bioquímica	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1
Total	1,5	1,2	1,2	1,4	1,2	1,1	1,6	2,1	1,4	1,4	1,4	1,7	1,4

Los datos obtenidos reflejan que las muestras de orina, y en especial las de 24 horas, son las que porcentualmente ocasionan las incidencias más importantes. Ello pudiera deberse a errores por desconocimiento del contenido de los perfiles que contienen pruebas a realizar en muestras de orina.

## CONCLUSIONES:

Junto a estas, las muestras para estudios de coagulación tampoco superan el estándar mínimo establecido por el Laboratorio (<3%).

En el polo opuesto, cabe destacar la completa recepción de todas las muestras destinadas a Serología.

Por otro lado, en el global de resultados se cumple el estándar establecido durante todos los meses, siendo en aquellos destinados habitualmente a las vacaciones del personal (julio, agosto, diciembre) donde se registran los peores resultados.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 345

## ANÁLISIS PARA LA ELABORACIÓN DE UN PLAN DE FORMACIÓN CONTINUA DE CALIDAD

Trabajo de: Salud Pública.

Autor/a/s: Beatriz Moreno Torres/ Carmen Otero Redondo

Centro de trabajo: Hospital Lucius Augusti de Lugo Departamento de docencia

Provincia: Lugo

Correo electrónico del primer firmante: beatriz.moreno.torres@sergas.es

## Introducción:

la educación continua surge como consecuencia de la necesidad de que la población adulta adquiera conocimientos constantes y dinámicos a lo largo de toda su vida profesional. Se definirá la educación continua como el conjunto de experiencias que siguen a la formación inicial y que permitirán al profesional de la salud mantener, aumentar e mejorar su competencia. Los departamentos de docencia interna se crean con la finalidad de proporcionar las herramientas necesarias para contribuir a la actualización de los conocimientos.

## Objetivos:

el objetivo general es incidir en el mantenimiento y mejora de la competencia a través de la formación e incrementar la capacitación profesional, detectando las necesidades formativas de los colectivos, de la institución y de los objetivos marcados por las unidades. El objetivo específico será mejorar la calidad asistencial.

Material: los métodos empleados

\*para detectar las necesidades asistenciales se utilizará el análisis de contexto: material formal ( encuestas ) entrevistas informales, grupos de expertos ( DELPHI ), informantes claves.

\*Para las necesidades institucionales se emplearán los indicadores de derivación, reingresos, prescripciones y pruebas complementarias.

\*Se operativizarán las necesidades en objetivos, priorizando por medio de criterios específicos, medibles, alcanzables.

Los recursos con los que contamos:

\*Fegas( Fundación pública. Escola Galega de Administración Sanitaria) con sus planes AFCAP y PEF

\*La docencia interna ( de enfermería y la Subdirección de RRHH.

-Las casas comerciales: cláusulas en los concursos para la formación técnica.

## RESULTADOS:

este pequeño análisis da como resultado:

\*Por ley, el personal estatutario tiene derecho a la formación continua.

\*La prestación sanitaria requiere un constante reciclaje en nuevas técnicas y nuevas tecnologías

\*Hay muy poca oferta formativa y un gran número de solicitudes.

\*No se cubren algunos campos: usos aplicativos

\*Hay poca oferta formativa para colectivos Minoritarios: técnicos.

Los departamentos de docencia interna no disponen de recursos económicos para solventar las necesidades detectadas.

## CONCLUSIONES:

un la única parte de la docencia en la que podemos intervenir es en la desarrollada desde la docencia interna.

Nuestro plan de formación debería como mínimo recoger:

\*un incremento de las acciones formativas.

\*la acreditación del mayor número posible de actividades.

\*mejorar la metodología empleada para valorar la docencia.

\*hacer llegar la formación a todos los colectivos ( también a los poco numerosos)

\*Potenciar la llamada formación horizontal: Proyecto ESSE ensina o que sabes, sabes o que ensinas

Bibliografía:

DOG nº 23, do 4 de febreiro de 1998; BOE 301 de 17/12/2003, RD 1142/2007 de 31 de Agosto

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 362

## FASE PREANALÍTICA EXTRALABORATORIO: ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD EN LOS CENTROS PERIFÉRICOS DE EXTRACCIÓN

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: CALVO NOGUERAS, CONCHITA-ALONSO POZA, GENOVEVA-JUEZ TUR, NIEVES

## INTRODUCCION:

El Servicio de Análisis Clínicos del C.M.E. Grande Covián de Zaragoza recibe muestras procedentes de hasta 64 puntos distintos de extracción, entre ellos 8 urbanos, con el mayor volumen de envío y el resto centros rurales, con la problemática de la dispersión geográfica. Al laboratorio llegan conjunta pero separadamente las muestras en los biocontenedores y la documentación. Los biocon-tenedores con las muestras usando triple envase y bloques de frío para su adecuado transporte que se depositan en Recepción de Muestras del laboratorio siendo el personal de recepción el encargado de revisar las condiciones de llegada, registrando cualquier incidencia detectada. La documentación, que incluye volantes de petición y listados con la relación de muestras enviadas, se deposita en Secretaría del laboratorio.

## Objetivo:

Se pretende un doble objetivo, trazabilidad completa del espécimen hasta su recepción por el laboratorio consiguiendo que la fase preanalítica extralaboratorio cumpla con los requisitos exigidos por la NORMA UNE-EN-ISO 15189:2007 y agilizar la comunicación, la resolución de incidencias y la implementación de acciones correctivas y preventivas con los centros periféricos.

## Material y métodos:

Revisión de los listados de extracciones y de otras muestras biológicas elaborados por los centros en los que necesariamente deben constar los siguientes registros: nombre y apellidos del paciente con el número asignado, hora de la toma o recogida de muestra, persona responsable de la obtención o recogida, tipo de muestra. Además estos listados han de ser utilizados para el registro de aquellas incidencias acaecidas en origen.

El estudio se ha llevado a cabo durante el periodo del primer trimestre del 2009 y se compara con el último trimestre del 2010 verificando el cumplimiento de 4 Indicadores y valorando la eficacia de las acciones emprendidas:

1-INDICADOR-HORA EXTRACCIÓN O RECOGIDA. Las muestras han de llegar antes de las 2 horas desde su extracción para evitar la degradación de los analitos más lábiles. A su recepción se registra hora de llegada y posteriormente hora de extracción, si el tiempo transcurrido excede de estas dos horas se incluirá en el Informe de resultados. Datos Orientativos.

2-INDICADOR-PERSONA RESPONSABLE DE TOMA. Facilita el poder hacer un seguimiento del espécimen en caso de incidencias para poder ser resueltas.

3-INDICADOR-TIPO DE MUESTRA. Su especificación es necesaria en el listado, el laboratorio puede necesitar la comprobación de este dato para su correcto procesamiento.

4-INDICADOR-PERSONA RESPONSABLE DE RECOGIDA. Facilita el poder hacer un seguimiento del espécimen en caso de incidencias para poder ser resueltas.

## RESULTADOS:

INDICADOR 1.-Mejoran 40 (64.6%). Se mantienen con un 100% de cumplimiento 17 (27.4%). Se mantienen

Incumpliendo 2 (3.2%). Empeoran 3 (4.8%).

INDICADOR 2.-Mejoran 35(56.5%). Se mantienen con un 100% de cumplimiento 4(6.4%).

Se mantienen

Incumpliendo 9(14.5%). Empeoran 14(22.6%).

INDICADOR 3.-Mejoran 31(50%). Se mantienen con un 100% de cumplimiento 3(4.9%).

Se mantienen

Incumpliendo 9(14.5%). Empeoran 19(30.6%).

INDICADOR 4.-Mejoran 47(75.9%). Se mantienen con 100% de cumplimiento 1(1.6%).

Se mantienen

Incumpliendo 11(17.7%). Empeoran 3(4.8%).

## CONCLUSIONES:

El Grado de Cumplimiento en el Indicador 1 es de un 91.9%, en el Indicador 2 es de un 63%, en el Indicador 3 es de un 54.8 % y en el Indicador 4 es de un 77.4 %, considerando todos un resultado positivo. Siendo el Grado de Incumplimiento para los Indicadores 1, 2, 3, 4 respectivamente, de un 8%, de un 37%, de un 45.1% y de un 22.5%, todos ellos porcentajes susceptibles de mejora.

La comunicación establecida con los centros periféricos se ha realizado de una forma inmediata o diferida dependiendo de la necesidad de resolución de la incidencia y se ha llevado a cabo vía fax y teléfono. Se observa que los mecanismos de

Comunicación están dando resultados positivos lo que el laboratorio se mantiene en su línea de actuación.

En cuanto a la posibilidad de mejora se están planificando visitas a los centros periféricos, incluidos los rurales, tanto

para transmitir de una forma más directa las necesidades del laboratorio como para atender las observaciones o

sugerencias que en el punto de extracción pudieran tener.

Se pretende que el centro periférico en su fase pre y post analítica se convierta en una prolongación del Laboratorio afianzando con ello la comunicación para mantener la necesaria relación entre médicos peticionarios, pacientes, centros periféricos y laboratorio.

## CARGAS DE TRABAJO Y DEMORAS EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS

Trabajo de: Bioquímica.

Autor/a/s: Rosa Lopez Carrillo, María Isabel Guerricabeitia Arriaga, Concepción Martín Puebla, María Encarnación Gutierrez Sanza, Francisco Javier Aguayo Gredilla y Manuel Eguileor Gurtubai

Centro de trabajo: HOSPITAL BASURTO. Laboratorio 24 horas. BILBAO

Provincia: VIZCAYA

Correo electrónico del primer firmante: rosalo245@hotmail.com

## INTRODUCCION:

En el laboratorio de 24 horas del hospital Basurto, se atiende la demanda urgente de nuestro hospital (con una capacidad de 690 camas) así como la de una serie de centros periféricos y hospitales dependientes de él. El hospital atiende una media de 141.567 urgencias anuales, de las cuales la mayoría (>95%) precisan de una analítica urgente. En el año 2.005 se integró físicamente el laboratorio de urgencias en el recientemente inaugurado pabellón de laboratorios, unificándose de esta manera todos los laboratorios hospitalarios en un único proceso asistencial. En la unidad de urgencias, están integrados 14 técnicos y 6 facultativos, en turnos de mañana, tarde y noche.

## Objetivo:

Con anterioridad, realizamos un estudio de cargas de trabajo en el período 2.002-2.004. En el, presente estudio, analizamos la actividad, cargas de trabajo y demoras en el período 2.005-2.010 y las comparamos con los datos precedentes.

## MATERIAL Y METODOS:

Se forma un equipo de cuatro técnicos, un facultativo y el jefe de servicio para valorar los datos de actividad 2.005-10. Se analiza el proceso y se obtienen los datos a partir de una aplicación informática propia del laboratorio. Se estudia el nº de solicitudes y la demora, estratificadas por meses y turnos de trabajo. Se comparan los datos con los obtenidos anteriormente (2.002-04).

## RESULTADOS:

El número de volantes anuales ha ido aumentando desde los 106.301 del año 2.005, hasta los 124.221 del año 2.010 (incremento del 17%) con una media de aumento anual del 3,4%. Comparando con los datos del año 2.002 (96.733 volantes) el incremento global ha sido del 28%. Globalmente, la actividad del turno de mañana representa el 40% del total, la de tarde el 35% y la de noche el 25%. El nº de volantes en turno de mañana ha aumentado un 10%, en el de tarde un 20% y en el de noche un 25%.

La demora media por volante en el período 2.005-10 fue de 28,8 min, con un máximo de 31,3 en el año 2005 (año del proceso de la unificación de laboratorios) permaneciendo estable en los tres últimos años en torno a los 27,5. Esta demora es claramente inferior a la del período 2.002-04, que estaba en 38 min. La demora es superior en el turno de mañana (35,4) que en el resto de los turnos (26,7 tarde ; 24,2 noche), probablemente debido a los procesos de calibración y mantenimiento que se realizan en dicho turno. No se ha encontrado una relación directa entre el aumento de actividad y demora, probablemente en relación con la progresiva automatización y estandarización de los procesos de laboratorio en estos últimos años.

## CONCLUSIONES:

- 1.- Se detecta un notable aumento de la actividad en el período estudiado (17%)
- 2.- El mayor aumento se detecta en el turno de noche (25%)
- 3.- La demora ha disminuido desde el año 2.005, encontrándose ahora en torno a los 27,5 min
- 4.- No existe relación directa entre el aumento de actividad y la demora, debido a la automatización de procesos y la progresiva adaptación a los mismos del personal.

## MEJORA DE LA SATISFACCIÓN DEL CLIENTE DE LA FASE POST-ANALÍTICA

Trabajo de: Salud Pública.

Autor/a/s: Inmaculada Criado Najar, José Carlos Zamora Fernández, Nuria Calderón Alonso, Anna Jové Torres, M<sup>a</sup> Jesús Sancho Vilellas

Centro de trabajo: Laboratorio clínico Tàrraco ICS Camp de Tarragona

Correo electrónico del primer firmante: inmacrina@gmail.com

## Introducción:

Formando parte de la mejora continua de la calidad, el laboratorio realiza anualmente una encuesta de satisfacción a sus clientes, marcando como indicadores una media global de la satisfacción percibida con el objeto de mejorar dicho valor.

## Objetivo:

Mejorar la percepción de la satisfacción de los clientes derivada de las encuestas realizadas el año anterior en las que se observa una media global de 6.8.

MIEMBROS DEL GRUPO DE MEJORA:

Constituido por cinco personas de diferentes estamentos del laboratorio:

- 3 Técnicos Especialistas de Laboratorio
- 1 del departamento de Secretaría y Administración
- La Coordinadora del Laboratorio.

#### MÉTODOS

- Reuniones con grupos de clientes diana para recoger cuales son las necesidades.
- Puesta a punto de acciones de mejora sugeridas.
- Proporcionar encuesta de satisfacción.
- Recogida de datos y comparación con el año anterior.

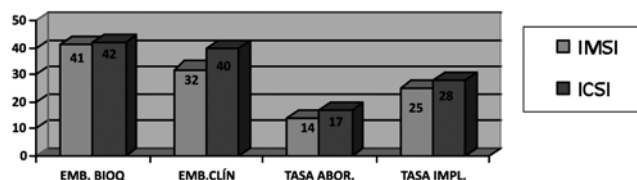
#### RESULTADOS:

Se recogen 200 encuestas procedentes de grupos diana de diferentes áreas, quedando recogidos los siguientes datos:

- Endocrinología: 7.67
- CAP Tarraco: 8.03
- Francolí: 7.34
- Pediatría: 6.11
- MEDIA: 7.28

#### CONCLUSIONES:

Las mejoras aplicadas desde el de Noviembre de 2010 han sido positivas. Aunque la encuesta tiene un carácter informativo, estos resultados nos orientan a seguir trabajando el tema y proponen como objetivo en el año 2011 continuar con otros clientes diana.



#### CONCLUSIONES:

La realización de la IMSI en pacientes con un valor de fragmentación del ADN no patológico, no mejora los resultados con respecto a pacientes que realizan una ICSI convencional.

Estos resultados difieren a lo observado por otros autores como Hazout y col (2), que ven como en pacientes con al menos dos ciclos previos en los que hay un fallo de implantación, la IMSI mejora los resultados obtenidos con respecto a la ICSI convencional.

#### Bibliografía:

- (1) Bartoov B, et al. Real-Time Fine Morphology of Motile Human Sperm Cells is Associated With IVF-ICSI Outcome. Journal of Andrology 2002 January/February;23:1-8
- (2) Hazout A, et al. High-magnification ICSI overcomes paternal effect resistant to conventional ICSI. RBM Online. 2006; 12 (1) 19-25.

Resumen Comunicación Científica - ORAL PANEL

Número: 435

### ICSI vs IMSI EN PACIENTES CON FRAGMENTACIÓN DEL ADN ESPERMÁTICO NO PATOLÓGICO.

Trabajo de: Salud Pública.

Autor/a/s: Pérez Ortiz, César; de la Casa Heras, Moisés; Sánchez Arenas, Teresa; Gijón de la Santa, Julio; Bonache Abad, Ricardo; Rodríguez de Mesa, Jesús; Alcaraz Pérez, Mar; Cañadas Gálvez, M<sup>a</sup> Carmen

Centro de trabajo: GINEFIV, Madrid

Correo electrónico del primer firmante: milkhousemad@hotmail.com

#### Introducción:

En la actualidad, con la aparición de nuevas metodologías para el estudio del gameto masculino como es el MSOME (Motile Sperm Organelle Morphology Examination), desarrollado por Bartoov y cols (1), podemos realizar un estudio más detallado de determinadas estructuras celulares que con las técnicas actuales no era posible determinar en tiempo real. Junto con el desarrollo de estos métodos, el nuevo impulso que han tenido otras técnicas ya desarrolladas hace más de dos décadas, como es la determinación de la fragmentación del ADN espermático, se nos plantea la cuestión de si podemos llegar a seleccionar el mejor espermatozoide.

La aplicación de este nuevo criterio de selección espermática MSOME y la realización de la microinyección espermática posterior, es lo que se conoce como IMSI (inyección intracitoplasmática de espermatozoides seleccionados morfológicamente). Hazout y col (2) demostró cómo la IMSI mejora los resultados en pacientes con fallos previos de implantación.

En cuanto a la fragmentación del ADN espermático, lo que vamos a determinar es la integridad del ADN; estos daños en la molécula pueden deberse tanto a fallos durante la espermiogénesis, así como a factores exógenos (tabaquismo, estrés, varicocele, etc).

En la actualidad sigue existiendo cierta controversia en cuanto a su utilidad en el estudio del factor masculino, encontrando bibliografía en ambos sentidos.

#### Objetivo:

El objetivo del presente estudio es determinar si la realización de la IMSI, en pacientes con niveles no patológicos de ADN fragmentado, mejora las tasas de gestación.

#### Material y métodos:

Estudio retrospectivo de 70 ciclos realizados en nuestro centro en 2010, en los que previamente se les había determinado en índice de fragmentación DFI mediante la técnica SCD (Sperm Chromatin Dispersión).

Se caracterizaron 2 grupos: IMSI : 22 pacientes; ICSI : 48 pacientes. En todos los casos se descartaba el factor femenino, siendo las pacientes menores de 37 años, sin patología ginecológica y en las que en la punción folicular se obtuvieron al menos 6 ovocitos en Metafase II.

Haciendo uso del paquete informático SPSS se realizaron análisis comparativos de los siguientes datos: embarazo bioquímico y clínico; así como las tasas de aborto e implantación en ambos grupos.

#### RESULTADOS:

Tras la comparación de ambas técnicas en los dos grupos, no encontramos diferencias significativas para ninguno de los datos analizados.

# ÍNDICE AUTORES

AFONSO SUAREZ, MARIA JOSE, 99  
AGUADO FRAILE, CELEDONIA, 46  
AGUIAR GIL, ADELAIDA, 36  
AGUILAR AMADO, LAURA, 131  
AGUILAR MONTESINOS, ANGELA, 43  
ALBA TRUJILLO, INMACULADA, 150  
ALBET DOMENECH, TERESA, 100  
ALCALA HERNICA, CRISTINA, 42  
ALMEIDA, LILIANA, 64  
ALONSO DIEZ, JOSE ANTONIO, 80  
ALONSO MONJE, ANA LUISA, 12  
ALVAREZ LLANOVA, TAMARA, 93 , 96  
ALVAREZ MORENO, ENCARNACION, 39  
AMOEDO FERNANDEZ, ELENA, 149  
ANGULO CARAMIÑANA, MARIA JESUS, 146  
ANTON, PILAR, 6  
ARAS IBARZABAL, MONIKA, 97 , 148  
ARCONES, CAROLINA, 146  
ARES VIDAL, OLGA, 31  
ARJONA CAMACHO, PILAR, 130  
ARROYO CAMPOS, ROSA MARIA, 132  
AYALA MOSCOSO, BENILDE, 137  
AYAPE ARBE, MARIA PILAR, 135  
AZNAR SANTOS, MONTSERRAT, 141  
BALBIN ARANEGA, MARIA CATALINA, 129  
BALLESTEROS LOPEZ, CLEMENTINA, 19  
BARALLOBRE NAYA, SANDRA, 97  
BARBERAN ACEITUNO, CRISTINA, 12  
BARCIA BARRERA, JOSE A., 64  
BARO ROMAN, FRANCISCA, 86  
BARRACHINA CARRANZA, SUSANA, 32  
BARRERA CASTAÑO, BENITA, 118  
BARROSO, ALICIA, 75  
BERLANGA CARO, ROSALIA, 91  
BETHENCOUT AGUILAR, DESSIREE, 55  
BLANCO BARBERO, Mª DEL SOCORRO, 80  
BOLAÑOS HERNANDEZ, MARIA ASUNTA, 21  
BOLAÑOS MACIAS, ROSA DELIA, 49, 73  
BONILLA LIBERAL, RAQUEL, 55  
BRAVO CABELLO, FRANCISCA, 58  
CABEZAS FERNANDEZ, SANDRA, 69  
CALVENTE PEREZ, ANA, 52  
CALVO LEYVA, V, 127  
CALVO NOGUERAS, CONCHITA, 158  
CANO SAAVEDRA, MARIA JESUS, 96  
CAPEL CASBAS, MARIA JESUS, 89  
CARMONA MANZANEDA, NOEMI, 9, 10  
CARRERO BAZ, PILAR, 64, 66  
CARRETERO CRUZ, SOLEDAD, 40, 41  
CASTELLON TORO, MARIA ISABEL, 85  
CASTILLO LOPEZ, MARIA, 124  
CASTRO FANDIÑO, JOSE ANTONIO, 98  
CERDA URBANO, HELIA, 42  
CERDAN TUDELA, MIRIAM, 9  
CLEMENTE AGUILAR, MARIA DEL MAR, 152  
COLAÇO SANTOS, TANIA FILIPA, 156  
CONTRERAS LOPEZ, ROSARIO Mª, 141  
CORONEL DIAZ, MARIA, 142

CORREIA, MARLENE, 105  
CORZO LOPEZ, MARIA ANGELES, 71  
COUSO FOLGUEIRAS, Mª ELENA, 7  
CRIADO NAJAR, INMACULADA, 65 , 161  
CUBILLO, ISABEL, 84  
DE AGUIAR SARAIVA RIBEIRO RUA, CATARINA, 76  
DE BRINGAS POSADILLO, MARIA ESPERANZA, 54  
DE CABO MORALES, Mª JOSEFA, 120  
DE LA FUENTE HUERGA, MARIA DEL CARMEN, 59  
DE LUCHI OLMO, Mª DOLORES, 68  
DEL ALAMO MAYO, MARIA DEL CARMEN, 39  
DEL DEDO TORRE, Mª ANGELES, 27  
DELGADO MARTIN, ANGELES, 111  
DIAZ DE LA LLAVE, MARIA JOSE, 33  
DIAZ DIAZ, ANGELES MARIA, 63  
DIAZ GONZALEZ, Mª CARMEN, 62  
DIAZ JIMENEZ, ADORACION, 132  
DIAZ VEGA, MARIA JESUS, 79  
DIAZ VICO, RAMONA, 38  
DIAZ ZAYAS, Mª DOLORES, 61  
DIAZ-MADROÑERO FERNANDEZ-ARROYO, JOSEFA, 110  
DIAZ-OLIVER RODRIGUEZ-ESCALONA, CRISTINA, 50, 51  
DOMINGO LOPEZ, ARANZAZU, 4  
DOMINGUEZ GARCIA, ESTER, 150  
DOMINGUEZ MARQUEZ, ANA ISABEL, 89  
ERKIAGA CORTES, MIREN ELISABETE, 60  
ESPIGARES GALLARDO, M.A., 157  
ESTEBAN PEPIO, Mª ANGELES, 112  
ESTEBANEZ GALLO, ANGEL, 14  
FELICES BERNAL, HORTENSIA, 35  
FERNANDEZ ALBERT, OLGA, 102  
FERNANDEZ DE GABRIEL, MARIA VICTORIA, 76  
FERNANDEZ ORGALES, Mª JESUS, 6  
FERNANDEZ, FERNANDO, 76  
FERRER GIMENEZ, Mª BLANCA, 62  
FIGAROLA CERVERA, ROSER, 154, 155  
FLORIDO GOMEZ, FRANCISCA, 144  
FRESNEDA DIAZ, CARMEN JOSEFA, 92  
FUENTES GONZALEZ, CRISTINA, 129  
FUENTES RAMOS, CARMEN, 63, 121  
GANDIA GONZALEZ, MARIA ARANZAZU, 119  
GARCIA CENTENO, ROSA Mª, 5, 6  
GARCIA DIAZ, EVELYN, 52  
GARCIA ESTIVIL, Mª ELENA, 139  
GARCIA FERNANDEZ, MONICA, 47  
GARCIA GARCIA, ELENA, 140  
GARCIA GUZMAN, CRISTINA, 47  
GARCIA HUERTAS, EVA MARIA, 106  
GARCIA JIMENEZ, MARIA ISABEL, 134  
GARCIA LAGAREJOS, LORETO, 104  
GARCIA LOPEZ, Mª NIEVES, 124  
GARCIA MONTES, ENCARNACION, 136  
GARCIA MONTES, TERESA, 92  
GARCIA MUÑOZ, Mª DEL PRADO, 91  
GARCIA NAVARRO, CRISTINA, 85  
GARCIA PEÑA, PILAR, 122  
GARCIA PERELA, INMACULADA, 20, 25  
GARCIA SAAVEDRA, MARIA DE LOS ANGELES, 127

GARCIA TIRADOR, FRANCISCO, 36  
 GARCIA VELA, JOSE HERMINIO, 116, 117, 147  
 GARCIA, ESTHER, 100  
 GARRIDO RUBIO, DOLORES, 23  
 GERTRUDIX, TERESA., 114  
 GIL CASANOVA, CARMEN MARIA, 6  
 GIL REYES, MERCEDES, 111  
 GOMEZ CAMACHO, SIERRA, 28  
 GOMEZ MARTINEZ, MERCEDES, 100  
 GOMEZ RAMIREZ, RAQUEL, 78  
 GONÇALVES, MILENE, 120  
 GONZALEZ ALVAREDO, JUDIT Mª, 90  
 GONZALEZ BARRETO, INES, 31  
 GONZALEZ DIAZ, YURENA, 124  
 GONZALEZ FERNANDEZ, MARIA DEL CARMEN, 128  
 GONZALEZ GONZALEZ, Mª ELVA, 122  
 GONZALEZ MARTIN, YAIZA DEL MAR, 66  
 GONZALEZ MURIANA, MERCEDES, 16  
 GONZALEZ RODRIGUEZ, MARIA ESTEFANIA, 86  
 GONZALEZ ROSA, MANUEL, 117  
 GONZALVO MALLON, ELENA, 15  
 GRILLO, MIGUEL ANGEL, 66  
 GUERRERO CRESPILO, ANGELA MARIA, 133  
 GUILLEN ESTEBAN, CARMEN, 82  
 GUILLEN ESTEBAN, PILAR, 26  
 GUTIERREZ ARANDA, IVAN, 4  
 GUTIERREZ JUAREZ, JESUS, 59  
 GUTIERREZ RAMOS, Mª DEL PILAR, 35 , 51  
 HARO DIAZ, ANA, 95  
 HERIAS CORRAL, MARIA, 53  
 HERNANDEZ ASENSIO, PILAR, 94  
 HERNANDEZ GARCIA, MARIA ANGELES, 77  
 HERNANDEZ MARCOS, PILAR, 33  
 HERNANDEZ MARTIN, ELENA, 159  
 HERNANDEZ RUANO, MONTSERRAT, 75  
 HERNANDEZ SOSA, SANDRA DEL CARMEN, 81  
 HERNANDEZ, ANGELA, 29  
 HERRAEZ CRESPO, BELEN, 15  
 HITA ROSINO, CARMEN, 126  
 IGLESIAS LOPEZ, VERONICA, 106  
 ISNARD CARO, LEONARDO JESUS, 144  
 JIMENEZ DE LA CASA, HORTENSIA, 82  
 JIMENEZ MARTI, LAURA, 68  
 JIMENEZ MARTIN, REMEDIOS, 83  
 JORGE RODRIGUEZ, CARMEN MARIA, 55, 144  
 JULIAN VIÑALS, MARIA A., 114  
 LACRUZ POLO, MARIA, 77  
 LAO BRETONES, ROSA, 98  
 LAPUEBLA VIEL, CONSUELO, 46  
 LEON REDONDO, SALVADOR, 32  
 LIGERO MARTIN, GERTRUDIS, 4  
 LINARES DICKLER, ISABEL, 72, 93, 111  
 LOMAS LOPEZ, FRANCISCA, 141  
 LOPEZ ALVAREZ, Mª IGNACIA, 27  
 LOPEZ BUENO, JOSEFA, 67  
 LOPEZ CARRILLO, ROSA, 161  
 LOPEZ CERECEDO, MARIA SALLY, 81  
 LOPEZ GARCIA, ANTONIO, 11  
 LOPEZ MATEO, Mª DEL ROSARIO, 137  
 LOPEZ PEREZ, CARMEN, 50  
 LOPEZ SOUTO, VERONICA, 65  
 LOPEZ, MARIA JOSE, 96  
 LORENTE CRUZ, DOLORES, 136, 137  
 LORENZO BELLIDO, ANA M., 25  
 LORENZO GARCIA, MARIA CANDELARIA, 57  
 LORENZO IGLESIAS, EVA MARIA, 93  
 LOSA JOVER, BEATRIZ, 149  
 LUCEA PAREJO, YOLANDA, 56  
 LUGO GONZALEZ, MERCEDES, 87  
 LUNA LOZANO, OLGA, 18  
 LUQUE GARCIA, ANTONIO, 11  
 LUQUE SANCHEZ, CARMEN, 44  
 LLAUDET IRANZO, MARGARITA, 94  
 LLURVA GALAN, ALEXANDRA, 59  
 MACIAS GONZALEZ, NOELIA, 9  
 MAGAÑA MARTINEZ, ISABEL Mª, 148  
 MANCHADO JIMENEZ, RAFAELA, 156  
 MARIA DOMINGUEZ, BERNARDINA, 152  
 MARIN SERRANO, MARIA DEL CARMEN  
 MARQUEZ SALAZAR, RAFAEL, 132  
 MARTIN ANDRES, MARIA FELICIDAD, 47  
 MARTIN DEL BARRIO, ESPERANZA, 150  
 MARTIN JEREZ, MARIA MONTSERRAT, 134  
 MARTIN MENDEZ, ANA ISABEL, 55  
 MARTIN VEGA, JOSE VALERIO, 53  
 MARTINEZ BETANZOS, ALEJANDRA, 23  
 MARTINEZ CAMEO, NIEVES FELISA, 154  
 MARTINEZ GARCIA, PASCUALA, 147  
 MARTINEZ PALACIOS, SANDRA, 69  
 MARTINEZ RUBIA, MARIA DOLORES, 15  
 MARTINEZ, MAR, 73  
 MARTINO SANZ, MARIO, 17  
 MATEU VALLDOSERA, MARIA JOSE, 88  
 MAURI, MARIA DEL CARMEN, 44  
 MEDIERO VALEROS, BEATRIZ, 63  
 MEDINA ALVAREZ, ELENA MARIA, 44  
 MEDINA ESTEBAN, NURIA, 5  
 MENDEZ MARTINEZ, NANCY, 27  
 MERIDA DEL CAÑO, MARIA DOLORES, 68  
 MERINO RIVILLA, Mª PILAR, 45  
 MEROÑO AGUILAR, CONSUELO, 73  
 MESSEGUER GARCIA, ESTHER, 120  
 MIRANDA ALFARO, GLORIA, 101  
 MIRONES AGUILAR, ISABEL, 107  
 MOCHOLI MORENO, SUSANA, 118  
 MOLINA MORA, MARIA JOSE, 43  
 MONGE CAMACHO, MARIA DEL PATROCINIO, 24  
 MORAGA ALCAZAR, JOSEFA, 49  
 MORAL MORAL, JUANA, 84  
 MORALES GALAN, PILAR, 138  
 MORAN CRIADO, ARACELI, 37  
 MORANTE ESPINOSA, ESMERALDA, 35  
 MORENO CASARES, ANTONIA Mª, 107, 158  
 MORENO PEREZ, MARIA JOSE, 37, 127  
 MORENO PUERTAS, M.I., 127, 128  
 MORENO RAMIREZ, RAQUEL, 142  
 MORENO RODRIGUEZ, PILAR, 87  
 MORENO TORRES, BEATRIZ, 160  
 MORENO VILLAR, EMILIA, 139  
 MORENO, ISABEL, 151  
 MUIÑO ANDRADE, MARIA JOSE, 134  
 MUIÑOS PORTELA, ANA Mª, 87  
 MUÑOZ LINARES, ROCIO, 153  
 MUÑOZ SAN JUAN, MARIA ISABEL, 77, 114



NAVARRO LINARES, HECTOR, 17  
 NAVARRO MARTIN, ESTRELLA, 116  
 NICOLAS DE LA PUENTE, JOSE MANUEL, 48  
 NIETO BAZAN, M<sup>a</sup> JESUS, 32  
 NORIA ROCAMONDE, CARMEN, 135  
 NUÑEZ GARCIA, MARIA ANTONIA, 8  
 OCAÑA UREÑA, CARMEN, 107  
 ONSURBE DOMINGUEZ, MARIA JOSE, 51  
 ORELLANA MORALES, INMACULADA, 123  
 ORTEGA AIXAS, OLGA, 20  
 ORTEGA ARNAIZ, MARIA DEL CARMEN, 88  
 ORTEGA PEREA, MARIA CAPILLA, 34  
 ORTEGA ROJO, FRANCISCO JOSE, 7  
 ORTIZ GARCIA, JUAN DIEGO, 21  
 PACIOS PACIOS, MARIA ANGELES, 8  
 PADRON ZAMORA, ELISEO ALBERTO, 155  
 PALLAS SATUE, ROSA M<sup>a</sup>, 131  
 PARDO CORRAL, MARIA DOLORES, 119  
 PAREDES MUÑOZ, YOLANDA, 145  
 PARRADO CRIADO, MARIA TERESA, 56  
 PASCUAL CAMPO, MARIA DEL CARMEN, 113  
 PATIÑO NARANJO, MARIA DEL PRADO, 53, 112  
 PELAEZ NORA, M<sup>a</sup> YOLANDA, 70  
 PEREZ ARIAS, MARIA DEL CARMEN, 58  
 PEREZ MARTINEZ, MARIA MONTSERRAT, 29, 69, 121  
 PEREZ NIEVES, ELISABET, 48  
 PEREZ ORTIZ, CESAR, 162  
 PEREZ PAREDES, MAR, 153  
 PEREZ PINAR, CARMEN, 125  
 PEREZ RIEDWEG, MARGARITA, 30  
 PICO FERNANDEZ, F<sup>o</sup> JAVIER, 101, 102  
 PINA ECHEVARRIA, MARIA JOSE, 21, 22, 30  
 PINTO VEGA, CARMEN, 111  
 PIÑEIRO, MARTA, 153  
 POZAS DATORRE, M<sup>a</sup> BELEN, 118  
 PRIETO DEL REY, ENCARNACION, 122, 125  
 PRIETO GRUESO, MONTSERRAT, 90  
 PRIETO SAINZ, BELEN, 26  
 PUADO LOPEZ, ALICIA INMACULADA, 66  
 PUMAREJO GOMEZ, ENRIQUETA, 14  
 QUESADA, MARIA JOSEFA, 95  
 QUINTANA TORRES, ROSER, 41  
 QUIROGA BRAÑAS, ADORACION, 80  
 QUIROS FERNANDEZ, LAURA, 82  
 RAMIRO LATIENDA, MARIA SUSANA, 113  
 RAMOS PEREZ, MARIA MAGDALENA, 57  
 RAMOS SIERRA, LETICIA, 152  
 RASO, SANDRA, 72  
 RAYA BUSTOS, CARMEN, 85  
 RECUERO GARCIA, M<sup>a</sup> PILAR, 130  
 REINA COMPANY, DIANA, 37  
 RICO LOPEZ, LUCIA, 104, 105  
 RIOS RAMOS, MARIA JOSEFA, 24  
 RODRIGUEZ CAMACHO, M<sup>a</sup> LUISA, 86  
 RODRIGUEZ FERNANDEZ, ADELA, 45  
 RODRIGUEZ FERNANDEZ, ANA ISABEL, 71, 109, 110  
 RODRIGUEZ LOPEZ, JUAN JOSE, 40  
 RODRIGUEZ LOPEZ, MARIA DEL CARMEN, 116  
 RODRIGUEZ LORENZO, LORENA, 41, 54  
 RODRIGUEZ MARTEL, DOLORES, 45, 60  
 RODRIGUEZ MILLA, MIGUEL ANGEL, 65  
 RODRIGUEZ POLLAN, ROSA HORTENSIA, 145

RODRIGUEZ SANTIAGO, OLGA, 18  
 ROLDAN MORENO, JOCABED, 92  
 ROMAN, M., 78  
 ROMERO ZARCO, MATILDE, 70  
 ROSET SERRA, ALBA, 65  
 ROVIROSA REVERTE, MONICA, 60, 61  
 RUBIO ALARCON, JOAQUIN, 16  
 RUIZ FERRI, AMPARO, 83  
 RUIZ GONZALEZ, MARIA DEL MAR, 158  
 RUIZ ORTEGA, M<sup>a</sup> ELENA, 142, 143  
 RUIZ SALINAS, GERARD M., 74  
 SAGRADO ARROYO, MARIA MONTSERRAT, 159, 160  
 SALCEDO MORENO, CARMEN, 109  
 SALVADOR LORENZO, MARIA JOSE, 151  
 SAMPAYO NOVOA, PAULA, 57  
 SAMPEDRO DE LA TORRE, INMACULADA CONCEPCION, 129  
 SAN JUAN, CARMEN, 30  
 SAN MARTIN MARTINEZ, DOROTEA, 34  
 SANCHEZ ALVAREZ, A., 74  
 SANCHEZ CONTRERAS, LAURA, 4  
 SANCHEZ FERNANDEZ, MANUELA, 17  
 SANCHEZ HERNANDEZ, MARIA DE LA PAZ, 146  
 SANCHEZ PASTOR, SOFIA, 108  
 SANCHEZ PIZARRO, ELENA, 56  
 SANCHEZ PORRAS, M<sup>a</sup> ANGELES, 51, 90  
 SANCHEZ QUINTANA, ENGRACIA, 74  
 SANCHEZ SALAZAR, MARIA ISABEL, 108  
 SANCHEZ VILCHEZ, GERTRUDIS, 8  
 SANCHO ARROYO, M<sup>a</sup> LUISA, 147  
 SANTAMARIA, ASUNCION, 123  
 SANTIN PIEDRAFITA, ENGRACIA, 10  
 SANZ GARCIA-SOLDADO, ENCARNACION, 159  
 SELLES MARQUES, PURIFICACION, 135  
 SERRANO FERNANDEZ, MARIA INES, 38, 50  
 SEVILLA SANCHEZ, MARGARITA, 113  
 SIERRA VAZQUEZ, TERESA, 22  
 SISO ROS, SONIA, 103  
 SOLER FERNANDEZ, ADORACION, 123  
 SOLORZANO OBISPO, MARIA JESUS, 28  
 SUAREZ MARTOS, AURORA, 70  
 TERZAN MOLINA, SILVIA, 43  
 TESTILLANO, MARIA, 158  
 TORRES CARRASCO, ELENA, 72  
 TORRES DIAZ, JAVIER LAZARO, 104, 109, 157  
 TORTAJADA, ANA ISABEL, 99  
 TURA FARRE, MARIA, 20  
 TURIEL VICENTE, ROSARIO, 10  
 VALIÑO PRIETO, PILAR, 126  
 VAZQUEZ BARBA, ISABEL DOLORES, 119, 156  
 VAZQUEZ PEREZ, MARIA DEL MAR, 140  
 VAZQUEZ, CARMEN, 97  
 VELA ESTEBAN, PALOMA, 108  
 VERGARA, SARA, 139  
 VILASECA GASAU, TERESA, 24  
 VIZCAINO HERNANDEZ, BELEN, 22  
 ZAPICO ORTIZ, NURIA, 18  
 ZORIO REYES, INMACULADA, 137, 138



Asociación Española Técnicos de Laboratorio

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

**secretaría técnica**

C/ Mayor, 6, 1º local 3 · 28013 MADRID · [granada2011@aetel.es](mailto:granada2011@aetel.es)  
t. 91 522 51 97 · f. 91 521 46 41