

**XXVI CONGRESO**  
**biomarcadores**  
**Alicante**  
**24 y 25 mayo 2013**

Auditorio de la Diputación de Alicante

CURSO PREVIO (TSLDC - TSAP y C)  
23, 24 y 25 de mayo de 2013  
**"Biomarcadores Oncológicos"**

Declarado de Interés Sanitario por el Ministerio de Sanidad,  
Política Social e Igualdad

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





— **Comité Organizador** —

Presidente Juan Carlos Rodríguez Pérez  
Vicepresidenta Noelia Salinas Iniesta  
Secretaría Técnica Enriqueta Pumarejo Gómez  
Secretaría de Finanzas Flora Sierra Puparelli  
Directora del Curso Previo Patricia Fernández González

— **Junta Directiva Aetel** —

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

— **Comité Científico** —

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



# SUMARIO

- Anatomía Patológica . . . . .	04
- Bioquímica . . . . .	14
- Genética . . . . .	39
- Hematología . . . . .	56
- Inmunología . . . . .	77
- Microbiología . . . . .	83
- Miscelánea . . . . .	110
- Índice de autores . . . . .	123

DIRECTOR Juan Carlos Rodríguez Pérez

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

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

37004 Salamanca - [salamanca@aetel.es](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 - PANEL

Número: 014

## KRAS/BRAF MUTACIONES EN CARCINOMA COLORRECTAL. UN ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE PCR EN TIEMPO REAL, SECUENCIACIÓN Y TECNOLOGÍA CHIP -HIBRIDACIÓN BASADA EN PCR.

Autor/a/s: Esmeralda Lindo Martin, Anna Mª Solsona Flotats, Rosa Somoza Lopez de Haro, Roso Mares pages, Teresa Moliner, Francesc Borrás, Stefania Landolfi, Javier Hernandez Losa, Pilar Magran Breu

Centro de trabajo: Hospital Universitario Vall D'Hebron

Localidad: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: eslima22@hotmail.com

### Introducción:

En las pruebas de mutación KRAS es obligatorio prescribir antes de todo mAbs anti-EGFR en el tratamiento de cáncer colorrectal avanzado. Otros estudios sugieren que la mutación BRAF también podría ser relevante en el manejo de estos pacientes. En la actualidad el método Sanger de secuenciación se han establecido como el método estándar de oro, sin embargo, recientemente han sido descritos otros métodos para poder determinar esta mutación. En este trabajo compararemos un nuevo método de detección, el Arraykit Cáncer, con otros dos métodos bien establecidos en una serie de 200 muestras de carcinoma de seres humanos.

### Objetivos y Método:

Hemos comparado tres métodos para la detección de mutaciones en los genes KRAS y BRAF en una muestra de 200 pacientes con carcinoma colorrectal humano. Se han utilizado dos conjuntos de muestras diferentes. Para evaluar el estado de la mutación KRAS se utilizó un kit basado en PCR en tiempo real (TheraScreen® KRAS mutación kit, Qiagen), y un kit basado en la amplificación por PCR e hibridación matriz con diferentes sondas (CLART® CMA KRAS BRAF-kit, Genómica SAU) en 159 muestras. En el conjunto de BRAF se utilizó la secuenciación de Sanger con cebadores específicos de BRAF y el ya mencionado CMA kit en 41 muestras. El kit CMA detecta mutaciones del gen KRAS 9 (todas las variantes G12, G13D, Q61H y Q61L) y 2 mutaciones BRAF (V600E y V600K). El ADN utilizado se extrae de muestra de tejidos fijados con formalina e incorporados en parafina. Tras la realización de las pruebas se comparará la sensibilidad de cada método con varios plásmidos, y una línea celular.

### Resultados:

El kit CMA ha detectado tanto KRAS, como la mutación BRAF en menos del 5% de ADN mutante en un fondo de ADN de tipo salvaje. El kit TheraScreen nos ha detectado el 67% (108/159), mientras que los mutantes del gen KRAS en CMA kit han sido detectados en un 66% (105/159). En el conjunto de BRAF, tanto Secuenciación, como con el kit CMA, han detectado un 34% (14/41) de los mutantes BRAF. Los casos que nos salieron discordantes, se han analizado en una segunda extracción. Una G12V detectado por TheraScreen kit se demostró ser un falso positivo en la segunda ronda por todos los métodos. Mutaciones G12A y G12V de muestras detectadas en ambas extracciones por TheraScreen kit no pudieron ser reproducidos por otras tecnologías, probablemente debido a una menor sensibilidad en estos ensayos. Además mediante CMA kit detectamos 3 muestra con mutaciones KRAS y BRAF que se habían perdido en el primer análisis. En el conjunto de KRAS se detectaron dos muestras V600E y también detectamos un G12C en el conjunto de BRAF.

### Conclusion:

El nuevo kit CMA detecta simultáneamente las mutaciones más frecuentes del gen KRAS y BRAF con alta sensibilidad y reproducibilidad en 2 pasos. Los resultados concordantes obtenidos por CMA en comparación con un kit utilizado como método estándar para la detección de mutaciones de KRAS y BRAF, Nos muestra que este nuevo método es muy útil y eficaz para la detección de mutaciones de KRAS y BRAF en muestras humanas de cáncer colorrectal.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 017

## ESTUDIO DE LA MUTACIÓN V600E EN MELANOMA PRIMARIO CUTÁNEO Y METASTÁSICO

Autor/a/s: Roberto Ródenas Fernández, Mª Belén Rivas Marcos, Mª Angustias Pérez Sánchez, Noelia Macías González, Isabel García Martínez, Juan José Garrido Gallego, Ángel Santos-Briz Terrón

Centro de trabajo: Hospital Universitario de Salamanca Localidad: Salamanca

Correo electrónico del primer firmante: cebolles@hotmail.com

### Introducción:

El melanoma cutáneo es un tumor cada vez más frecuente con un pronóstico ominoso en enfermedad avanzada con una supervivencia media de 9 a 10 meses. Entre un 40% y un 60% de los melanomas muestran alguna mutación del protooncogen BRAF que activa de forma intrínseca la vía de la MAP quinasa.

Hoy sabemos que los melanomas que muestran la mutación V600E de BRAF son sensibles a fármacos inhibidores como el Vemurafenib y el Dabrafenib, que logran una alta tasa de respuesta a pesar de que de forma prácticamente invariable todos los tumores desarrollan resistencia a dichos fármacos.

El desarrollo de nuevos tratamientos ha supuesto un cambio en la actitud terapéutica y el diagnóstico anatópatológico del melanoma. Hoy en día es necesario además del diagnóstico anatomopatológico conocer el estado mutacional en los estadios avanzados

Los objetivos de este trabajo son determinar la incidencia de la mutación BRAF V600E en melanoma primario y metastásico mediante PCR en tiempo real.

### Material y Métodos:

Realizamos un estudio de 153 pacientes con melanoma, a los que se hizo un estudio del BRAFV600 del tumor primario y metástasis ganglionares utilizando el sistema COBAS 4800.

Para ello seleccionamos sobre una sección histológica teñida con H&E una zona que contenga un 50% de células tumorales. Una vez seleccionado se hace una micro disección sobre un corte de cinco micras.

Seguimos los siguientes pasos:

Desparafinado del tejido con el kit FFPET montados en portaobjetos.

Extracción del ADN.

Cuantificación del ADN y cálculo de volúmenes mediante el NANODROP.

Amplificación y detección mediante el COBAS 4800.

### Resultados:

Se estudiaron un total de 152 pacientes con melanoma primario, con edades entre 17-85 años, de los cuales el 55% eran mujeres y el 45% hombres. El 54% de los tumores primarios se encontraban ulcerados, un 58'87% mostró ganglio centinela negativo y el 40'13% restante positivo.

Los pacientes con metástasis ganglionar desarrollaron con mayor frecuencia metástasis cutáneas tanto satélites como a distancia. El estudio molecular demostró que de los 152 pacientes existía la mutación de BRAF en el 55'9% de los tumores primarios.

Tal y como se ha descrito en la literatura los casos con fotoexposición intermitente mostraron de forma estadísticamente significativa una mayor tasa de mutación y metástasis ganglionares.

En cuanto a la relación entre la mutación de BRAF y las variables histológicas, de manera estadísticamente significativa, los tumores mutados mostraron una celularidad epitelioide y mayor consumición epidérmica.

En cuanto a la correlación entre los tumores primarios y las metástasis pudimos extraer DNA tumoral confirmado histológicamente en 51 de los 61 casos con metástasis ganglionares.

De estos 51 pares observamos una concordancia en el estado mutacional del 74'5% y una discordancia del 25%.



De los 19 casos que tenían un tumor primario y nativo, la mayoría presentaron una metástasis ganglionar nativa y solamente un caso una metástasis con mutación.

De los 32 casos con tumor primario mutado un 62% presentaron una metástasis mutada. De forma sorprendente un 37'5% mostraron metástasis ganglionares nativas.

#### Conclusiones:

1. La tasa de mutaciones de BRAF v600E en nuestra serie de melanomas es del 55'9%.
2. Los tumores con mutación BRAF v600E se relacionan de forma significativa en:
  - Fotoexposición intermitente.
  - Mayor frecuencia de MTX ganglionares linfáticas.
  - Fenotipo epiteliode, consumición epidérmica.
3. La discordancia entre el estado mutacional de BRAF entre tumores primarios y metastásicos no es un hallazgo infrecuente.
4. Apoya la teoría de que los melanomas muestran policlonalidad con diferentes poblaciones con BRAF<sup>WT</sup> y BRAF<sup>MUT</sup> ambas con capacidad metastásica.
5. Nuestros resultados preliminares sugieren que con fines terapéuticos, puede ser más indicado realizar las determinaciones de BRAF en tejido metastásico que en tumores primarios

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 046**

### CARCINOMAS DE VESÍCULA BILIAR, ESTUDIO RETROSPECTIVO EN EL COMPEJO ASISTENCIAL DE ZAMORA

*Autor/a/s: Pérez Ibeas Dévora Aurora, Alvarez González M<sup>a</sup> Begonia, Prieto Puente M<sup>a</sup> Luisa, Ballesteros López Clementina, Cecilio Ramos Felipa, Romero Gallego Agustina, Rodríguez Santiago Olga y Amigo Fernández Teresa.*

*Centro de trabajo: Hospital Virgen de la Concha Localidad: Zamora*

*Correo electrónico del primer firmante: sahiyita@live.com*

#### Introducción:

Los carcinomas de vesícula biliar son raros, con una incidencia estimada de 1-2% de piezas de colecistectomía. El adenocarcinoma es el subtipo histológico más frecuente, con una incidencia de 2,5 casos por 100.000 habitantes/año. En la literatura se describe que son más frecuentes en mujeres (edades comprendidas entre los 60-70 años) y aproximadamente el 80% se asocia a coleditiasis. El riesgo de desarrollar un carcinoma en una mujer con coleditiasis es solo del 1-3%.

#### Objetivos:

1. Ver la prevalencia de carcinoma de vesícula biliar en el Complejo Asistencial de Zamora.
2. Valorar parámetros clínicos de los pacientes con carcinomas de vesícula biliar.
3. Valorar el tipo histológico más frecuente, así como la extensión tumoral local.

#### Material:

Se realiza un estudio retrospectivo de 226 vesículas biliares del año 2012, en las que se encuentran seis casos de carcinomas de vesícula biliar, cuatro de los cuales fueron diagnosticados en pieza quirúrgica y dos en biopsias por aguja gruesa (BAG).

#### Método:

Las muestras han sido fijadas en formol tamponado al 10% e incluidas en parafina. Los cortes histológicos se han cortado a tres micras, utilizándose la técnica de hematoxilina-eosina en el sistema automatizado Tissue-Tek DRS.

#### Resultados:

- 1-Hemos encontrado carcinomas de vesícula biliar en seis de los 226 casos estudiados, lo que supone un 2,6 %.
- 2-Cuatro de los pacientes son mujeres y dos hombres, con edades variables entre 61 años y 78 años, con una media de edad de 72 años.
- 3- El tipo histológico más frecuente es el adenocarcinoma ( cinco casos ), siendo el otro un carcinoma pobremente diferenciado.

4-En los casos diagnosticados en pieza quirúrgica el tumor se extiende a tejido perimuscular.

#### Conclusiones y discusión:

1. La edad media de los casos estudiados es de 72 años, siendo más frecuente en mujeres que en hombres.
2. La prevalencia de carcinoma en vesícula biliar en el Complejo Asistencial de Zamora es del 2.6%, similar a lo descrito en la literatura .
3. En nuestros casos el carcinoma se asocia a coleditiasis y todos ellos se extienden al tejido adiposo perimuscular.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 063**

### “ESTUDIO COMPARATIVO: PRUEBA DE MUTACIÓN COBAS KRAS(ROCHE DIAGNÓSTICO) Y THERA SCREEN KRAS PCR (QIAGEN)

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

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

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

#### Introducción:

El cáncer colorrectal (CCR) es una neoplasia común en los países industrializados. El protooncogen kras codifica una proteína intracelular (KRAS) que juega un papel importante en la señalización del desarrollo y progresión del cáncer colorrectal metastático.

Mutaciones en el protooncogen kras, presente en el 24-43% de los CCR, provoca su activación continua y, por tanto, la permanente proliferación celular. Debido a esto, el estudio mutacional de kras se ha convertido en un requerimiento previo al establecimiento de la terapia antitumoral. Actualmente no existe test estandarizado para determinar su estado mutacional aprobado por la Food and Drug Administration, siendo las metodologías empleadas variadas y sujetas a una amplia variabilidad interlaboratorio.

#### Objetivo:

Determinar el grado de correlación que existe entre los resultados obtenidos mediante el kit TheraScreen KRAS PCR (Qiagen) y prueba de mutación cobas KRAS (Roche Diagnostics).

#### Material y Métodos:

Se determinó la presencia o ausencia de mutación en el protooncogen kras en muestras de tejido colónico fijadas en formol e incluidas en parafina de 33 pacientes con CCR avanzado.

Las muestras fueron analizadas por dos métodos. Inicialmente, por el kit TheraScreen KRAS PCR (Qiagen) que está diseñado para detectar 7 mutaciones en los codones 12 y 13 del protooncogen kras que utiliza sondas Scorpions. La segunda metodología utilizada fue la prueba de mutación cobas KRAS que trabaja junto al sistema cobas z4800 (Roche Diagnostics). Esta última permite identificar 21 mutaciones somáticas en los codones 12/13 y 61 del protooncogen kras. Este sistema utiliza sondas TaqMan.

#### Resultados:

El informe de los resultados por ambos procedimientos identifica si existe o no mutación. Los resultados obtenidos por ambos métodos coincidieron en el 100% de los casos.

#### Conclusiones:

Según la literatura, la mayor prevalencia de mutaciones del gen kras se encuentra en los codones 12 y 13, mientras que mutaciones en el codón 61 tiene una prevalencia menor. Esto último explicaría que en el número de tumores analizados la concordancia sea del 100% entre ambas metodologías, ya que ambas analizan los codones 12 y 13. Con un tamaño muestral mayor sí podría ponerse de manifiesto la presencia de mutaciones en ciertos pacientes por el método de Roche Diagnostics, que detecta mutaciones en el codón 61, los cuales no se detectarían por el método de Qiagen, con el consiguiente perjuicio terapéutico para el paciente.

**“DETERMINACION DEL VALOR PREDICTIVO DEL GANGLIO CENTINELA EN EL CANCER DE COLON POR EL METODO OSNA”**

Autor/a/s: J. F. Pérez-Fontán Fernández, E. J. Alonso Morrondo, M<sup>a</sup>. G. Monescillo Martín, M<sup>a</sup>. A. Pacios Pacios, R. Rodríguez Martín, R. Gervás Ríos, O. Bengoechea Miranda

Centro de trabajo: Hospital Universitario de Salamanca Localidad: Salamanca

Correo electrónico del primer firmante: josefer@usal.es

**Introducción**

En España el cáncer de colon es el tumor más frecuente, con casi 28.000 nuevos casos al año. La incidencia en nuestro país se puede considerar alta en ambos sexos y su tendencia es a aumentar, con más celeridad en el sexo masculino. Aproximadamente un 54% de los pacientes que sufren un cáncer colorrectal en España sobreviven más de 5 años.

El concepto de “Ganglio Centinela” está basado en la premisa de que el drenaje linfático de los tumores se inicia a través de un número pequeño de ganglios linfáticos. A estos se les ha llamado “ganglios centinela”. Si esto es así, el estudio de los ganglios centinela es predictor del estado del resto de los ganglios, es decir, un centinela negativo indicaría que el tumor no ha iniciado un proceso metastásico (y por tanto, se podría clasificar al paciente como NO, de acuerdo con la clasificación TNM), en tanto que un centinela positivo sería indicador de que se ha iniciado dicho proceso.

En el tratamiento del cáncer de colon, el estudio de los ganglios linfáticos representa un factor de pronóstico de trascendencia, así como el parámetro de referencia para la estadificación. De acuerdo con las guías de tratamiento a nivel global y nacional, es aconsejable el empleo de quimioterapia adyuvante en pacientes en los cuales se detecten metástasis en uno o varios ganglios linfáticos.

El procedimiento de referencia actual para la estadificación de ganglios en el cáncer de colon consiste en el examen histopatológico postoperatorio de un mínimo de 12 ganglios linfáticos a los que se les realiza una tinción de hematoxilina-eosina. No obstante, se producen recidivas locales o metástasis a distancia en hasta el 30% de pacientes con enfermedad en fase II en un plazo de 5 años tras la cirugía, lo que significa una tasa de supervivencia muy inferior a otros tipos de cáncer. Podría argumentarse que una de las causas puede derivar del estudio limitado que se realiza del tejido de los ganglios linfáticos, lo que omitiría una proporción de metástasis relevante, generando una incidencia significativa de falsos negativos (entre el 11% y el 24%) (Iddings, 2006; Davies, 2008), ya que el proceso histopatológico rutinario evalúa menos del 1% de la totalidad del ganglio. Como consecuencia, estos pacientes pueden haber sido infra-estadificados y el tratamiento adyuvante podría serles beneficioso.

En este trabajo se propone una técnica molecular de amplificación de ácido nucleico en un solo paso (OSNA). Es un procedimiento isotérmico que utiliza una tecnología de amplificación rápida de ácidos nucleicos (RT-LAMP\*) para detectar el nivel de expresión del mRNA de la citoqueratina 19 (CK19). CK19 es un marcador celular epitelial que normalmente no está presente en el tejido de los ganglios linfáticos.

OSNA puede detectar micrometástasis y macrometástasis y en el presente estudio se utilizará para comparar los resultados obtenidos en los ganglios identificados como “centinela” y en los “no centinela” en pacientes con cáncer de colon.

**Objetivos:**

1. Determinar la viabilidad operativa de identificar ganglios centinela ex/vivo.
2. Determinar si la estadificación de los ganglios centinela es capaz de predecir el estado del resto de los ganglios.
3. Determinar el valor predictivo de “la carga tumoral” (nº de copias de mRNA) en los ganglios centinela respecto al número de ganglios no centinela afectados.
4. Determinar cuántos ganglios cerca del centinela son necesarios para obtener una estadificación correcta del paciente.

**Material y métodos**

En la pieza en fresco, se identifican los ganglios centinela por mapeo ex vivo con colorante vital (Patent Blue V).

Una vez extraídos los ganglios centinela, se busca el resto de los ganglios, se identifican y se almacenan a -80°C hasta que se lleve a cabo el análisis OSNA (permite analizar en ganglio entero).

El resto de la pieza, una vez extraídos todos los ganglios, se fijará en formol, a fin de facilitar la identificación de ganglios residuales que no hayan sido encontrados en la pieza en fresco.

El tejido del ganglio linfático se homogeniza, no siendo necesaria una purificación previa del ARN. Las muestras se introducen en el sistema automatizado de detección en tiempo real RD-100i que asegura resultados rápidos precisos y estandarizados.

Se considerarán resultados positivos los que el sistema indique como ++ (macrometástasis) y como + (micrometástasis). Se considerarán resultados negativos los que el sistema indique como - (L) y como -.

Se establecerá una relación de concordancia entre ganglios centinela y no centinela, de forma que todas las opciones serán “concordantes” excepto en aquellos casos en que todos los centinelas sean negativos y alguno de los no centinelas sea positivo. En este caso se considerarán “discordantes” y por lo tanto, no se cumplirá el valor predictivo de la carga tumoral.

**Resultados y Conclusiones:**

1. Buena calidad y rapidez en la identificación de ganglios: 89% identificados en la pieza en fresco y 94% a <5cm del tumor.
2. Los condicionantes observados han sido que algunos ganglios no cumplen las especificaciones de peso requeridas y el elevado número de ganglios hallado.
3. El número elevado de ganglios se puede resolver con una automatización del proceso, de forma que la técnica OSNA mejoraría el flujo de trabajo actual.
3. El valor predictivo no es muy elevado pero estamos en las fases iniciales del estudio. A menudo, los primeros casos se descartan ya que forman parte de la llamada “curva de aprendizaje”. Esto tendría sentido en una técnica tan laboriosa, la cual requiere cierta experiencia previa para conseguir cierto éxito en su desarrollo.
4. Los resultados obtenidos hasta el momento confirman que la técnica OSNA es apropiada para el diagnóstico del cáncer de colon (rescate de aproximadamente un 30% de pacientes desde pNO).
5. El marcaje “exvivo” (tinción) requiere una fase manual y técnica algo laboriosa y poco integrada en la rutina del servicio. Sin embargo, la disección en fresco se hace de forma intraoperatoria en un tiempo considerablemente menor al de fijación en formol.
6. La estadificación mediante el estudio de los ganglios linfáticos centinela en cáncer de colon es viable (“uptaging rate”: 60%). Consecuentemente, se podría afirmar que se trata de una técnica prometedora para esta aplicación.

**Referencias**

- Iddings D, Ahmad A, Elashoff D, Bilchik A. The prognostic effect of micrometastases in previously lymph node negative (NO) colorectal carcinoma: A meta-analysis. *Ann Surg Oncol* 2006; 13: 1386-1392.
- Davies M, Arumugam PJ, Shah VI, Watkins A, Roger MA, Carr ND, Beynon J. The Clinical Significance of Lymph Node Micrometastasis in Stage I and Stage II Colorectal Cancer. *Clin Oncol Transl* 2008; 10: 175-9.

**ESTUDIO MUTACIONAL DE EGFR, KRAS Y BRAF MEDIANTE TÉCNICA DE PIROSECUENCIACIÓN. OPTIMIZACIÓN DE LA TÉCNICA EN NUESTRO SERVICIO.**

Autor/a/s: Mari Carmen Ramos, Jose Antonio Vázquez, Daniel Zamora, Maribel Agustín, Rubén Carrera, F.Javier Andreu.

Centro de trabajo: UDIAT. Corporació Sanitària Universitària Parc Taulí Localidad: SABADELL

Correo electrónico del primer firmante: mcramos@tauli.cat

**Introducción.**

El estudio mutacional de los genes EGFR, KRAS Y BRAF tiene además de interés pronóstico, sobre todo en cáncer de colon y pulmón, valor como factor predictivo de respuesta a nuevos tratamientos específicos. La pirosecuenciación es una técnica basada en la secuenciación por síntesis, acoplando la síntesis de DNA a una reacción quimioluminiscente, lo que permite una rápida determinación de secuenciación en tiempo real. Dicha técnica tiene una sensibilidad mayor que la secuenciación de Sanger (considerada gold-estándar), y aunque menor que otras técnicas moleculares (como la Real-Time PCR o RT-PCR) tiene la ventaja adicional del estudio simultáneo de la secuencia de DNA.

## Objetivos.

1) Comprobar la idoneidad de diferentes muestras clínicas en la obtención de DNA para pirosecuenciación; y 2) Comprobar la utilidad de la pirosecuenciación en el estudio de mutaciones de EGFR, KRAS y BRAF partiendo de diferentes muestras a estudio (biopsia, bloque celular y extensiones celulares).

## Material y Métodos:

1) Extracción. Extracción de DNA mediante el kit QIAmp DNA FFPE Tissue Kit (QIAGEN®). En el caso de estudio de bloque celular o biopsia, extracción de material a partir de secciones de micrótopo (50 µm), previa selección al microscopio de áreas más representativas (macrodissección). En el caso de estudio a partir de extensiones celulares, se marcan los grupos celulares, se destiñen las preparaciones y se obtiene material por raspado para su procesamiento. Posterior digestión overnight en proteinasa K y extracción automática con QIAcube (QIAGEN®). 2) Cuantificación y evaluación de la calidad del eluido. Mediante Nanospectrofotómetro (Bio-Spec Nano, Shimadzu®). Se considera material óptimo para pirosecuenciación, cantidades de DNA  $\geq 20$  ng/µl. con ratio de 260/280, entre 1.6 y 1.8; 3) PCR. Preparación de la PCR previa dilución (opcional, según la muestra problema utilizada) a concentración 5 ng/µl.; inmovilización de los productos de PCR obtenidos; preparación de la placa y los productos de pirosecuenciación (en la estación de trabajo PyroMark Vacuum Workstation®); programación del pirosecuenciador y del cartucho (con los reactivos de pirosecuenciación propiamente dichos, enzimas y nucleótidos); y por último, pirosecuenciación del fragmento amplificado. 4) Análisis. Finalmente, análisis con software PyroMark Q24 v2.0.6® (QIAGEN®).

## Resultados.

De un total de 117 estudios de pirosecuenciación, 94 muestras provienen de biopsias con resultados óptimos en un 98.9% (93/94), con una concentración media (ccm) de DNA de 175.3 ng/µl y una ratio 260/280 media (rm) de 1.71. En el caso de bloques celulares se realizan 18 estudios con resultados óptimos en un 83.3% de los casos (15/18), ccm de 48.6 ng/µl, rm de 1.45. En el caso de extensiones celulares, se efectúan 5 estudios con un 80% de resultados óptimos (4/5), ccm de 40.75 ng/µl, rm de 0.99. 2. Los resultados del análisis mutacional se detallan en la siguiente tabla:

	nº casos	mutaciones	wt	No informativos
KRAS	43	21 (49%)	20 (46%)	2 (5%)
EGFR	58	4 (6.9%)	51 (88%)	5 (5.1%)
BRAF	16	5 (31.3%)	11 (68.7%)	

Las distintas mutaciones se detectaron tanto en el material de biopsia (n=27), como en bloque celular (n=3). No se detectó ningún caso mutado en extensiones citológicas. Los casos no informativos se presentan en el grupo de biopsias (n=3) y en el de citologías (n=4).

## Conclusiones.

1) La ratio de obtención de eluido de DNA considerado óptimo para la pirosecuenciación es excelente en los diferentes tipos de material procesados ( $\geq 80\%$  para todos ellos); 2) El porcentaje de resultados no informativos es independiente de la mutación estudiada (siendo similar para EGFR, KRAS y BRAF, y próxima al 5%) y del material de origen para la extracción de DNA; y 3) Las frecuencias de mutaciones de EGFR, KRAS y BRAF están dentro del rango esperable (6.9% para EGFR, 49% para KRAS y 31.3% para BRAF), aunque la comparación entre diferentes series, puede estar sesgada por diferentes criterios de selección de los pacientes y por el diferente abordaje técnico.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 077

### INMUNOHISTOQUÍMICA Y RELACIÓN CON VARIABLES CLÍNICO-PATOLÓGICAS Y VALOR PRONÓSTICO EN PACIENTES CON TUMORES DE TESTÍCULO

Autor/a/s: Alejandra Ordás Piñero, M<sup>a</sup> del Carmen Rodríguez González, M<sup>a</sup> Antonia Núñez García, M<sup>a</sup> Francisca Porras Trigo, M<sup>a</sup> del Pilar Santamaría Basilio, Sonia López Overa, Patricia Antúnez Plaza

Centro de trabajo: Hospital Universitario de Salamanca Localidad: Salamanca

Correo electrónico del primer firmante: sandra\_op1@hotmail.com

## Introducción:

Los tumores testiculares suelen detectarse en adultos jóvenes, representando alrededor del 1% de las neoplasias en el varón. La mayoría de ellos son tumores germinales, considerados generalmente como neoplasias quimiosensibles. Sin embargo, algunos pacientes fallecen por ausencia de respuesta al tratamiento oncológico. La inmunohistoquímica (IHQ) podría ayudar a identificar a estos pacientes.

## Objetivos:

Estudiar la expresión de dianas terapéuticas (EGFR, HER2/neu, C-KIT, ciclina D1, p27, p21) en distintos tumores y tratar de determinar la expresión de estos marcadores en cada tipo de tumor.

## Material y Métodos:

Entre diciembre de 2007 y diciembre de 2012 se realizaron 54 orquiectomías en el Hospital Universitario de Salamanca. De ellas, 27 correspondieron a lesiones malignas o pseudotumorales. Se revisan retrospectivamente las historias clínicas de los pacientes. Se realiza tissue microarray (TMA) a partir de las muestras de parafina de estos especímenes y se evalúa la expresión IHQ de p21, p27, ciclina D1, EGFR, C-KIT y HER-2/neu.

## Resultados:

Mediana de edad 32 años (rango 1-59). Tiempo de seguimiento medios 20,72 meses (rango 2-44). Tipos histológicos: 1 rhabdomyosarcoma embrionario, 1 linfoma B difuso, 1 leiomioma paratesticular, 1 leucemia linfocítica aguda (LLA), 1 tumor de células de Sertoli, 1 tumor de células de Leydig, 1 tumor del seno endodérmico, 11 seminomas (1 atípico y otro con rasgos anaplásicos), 9 tumores germinales mixtos. 3 muertes: varón 14 años con rhabdomyosarcoma paratesticular (supervivencia 17 meses); varón 33 años con LLA (supervivencia 22 meses) y varón 26 años con seminoma clásico (supervivencia 5 meses). Se detectó expresión de EGFR y HER-2/neu en un 26% y un 15% de los tumores respectivamente. C-KIT se expresó en la mayor parte de los tumores seminomatosos (95%), con ausencia casi total en el coriocarcinoma y en el teratoma.

## Conclusiones:

EGFR, HER-2/neu y C-KIT poseen diferentes patrones de expresión en función del subtipo histológico del tumor germinal. C-KIT se expresa en la mayor parte de los tumores seminomatosos (95%), con ausencia casi total en el coriocarcinoma y en teratoma. Se requieren más estudios para confirmar estos hallazgos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 079

### “APROXIMACIÓN A UNA NUEVA CLASIFICACIÓN PRONÓSTICA DEL CARCINOMA COLORRECTAL ESPORÁDICO BASADA EN LAS ANOMALÍAS DE LAS REGIONES CROMOSÓMICAS 17P11.2, 22Q11 Y EN LOS NIVELES DEL CEA”.

Autor/a/s: Ruth Gervás Ríos, M<sup>a</sup> Angustias Pérez Sánchez, M<sup>a</sup> Ángeles Pacios Pacios, Roberto Ródenas Fernández, M. Mar Abad Hernández, Jose María Sayagués Manzano.

Centro de trabajo: Banco de Tumores. Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario de Salamanca. Localidad: Salamanca

Correo electrónico del primer firmante: rutige@hotmail.com

## Introducción.

El cáncer colorrectal (CCR) es la tercera neoplasia en el mundo y la segunda en los países occidentales, superado sólo por el cáncer de pulmón en el varón y el cáncer de mama en la mujer. Es además el cáncer más frecuente del aparato digestivo. En España la incidencia de cáncer colorrectal parece ir en aumento en los últimos años, como sucede en general en todos los países industrializados.

Hay evidencia de que la patogenia del CCR obedece a una compleja interacción entre factores genéticos y otros de tipo medioambiental. Actualmente se acepta que el CCR se genera como resultado de una acumulación de errores genéticos que pueden estar presentes como defectos hereditarios o se originan secundariamente a factores ambientales. El modelo aceptado de oncogénesis tumoral propugna que los cambios genéticos de la mucosa colorrectal dan como resultado que la mucosa normal pase a hiperplasia, adenoma, cáncer “in situ” y finalmente cáncer invasor.



En este sentido cabe destacar que el CCR reúne unas características que lo distinguen de otras neoplasias por la existencia de una reconocida lesión preneoplásica, el adenoma o pólipo adenomatoso, que precede en varios años a la aparición del CCR, y que puede ser fácilmente detectable y extirpado mediante técnicas endoscópicas. Atendiendo a ello, hoy clasificamos el CCR en:

I.- Cáncer Colorrectal Esporádico (85-90% de los casos de CCR): relacionado con factores ambientales y dietéticos (consumo elevado de grasas, proteínas animales y escasa fibra). Presentación preferentemente izquierda. Edad media de aparición: 62 años. Secuencia adenoma-carcinoma normal: 10 años aprox.

II.- Cáncer Colorrectal Hereditario: existen dos síndromes principales asociados, 1. Poliposis familiar adenomatosa (PAF), 2. CCR hereditario no asociado a poliposis o síndrome de Lynch.

### Objetivo.

La mayoría de las muertes producidas en pacientes con cáncer colorrectal (CCR) esporádico son causadas por la diseminación metastásica del tumor primario. Estudios genéticos de diferentes neoplasias sugieren que el potencial metastásico radica en el propio tumor primario. De hecho, los tumores metastásicos muestran sistemáticamente las mismas anomalías genéticas que sus correspondientes tumores primarios. El objetivo de este estudio fue explorar el impacto pronóstico de las anomalías numéricas/estructurales de los cromosomas más frecuentemente alterados en el CCR esporádico.

### Material y Métodos:

En conjunto, analizamos un total de 58 pacientes diagnosticados de CCR esporádico (31 tumores no metastásicos vs. 27 tumores metastásicos); en todos los casos investigamos la existencia de alteraciones numéricas/estructurales para los cromosomas 1, 7, 8, 13, 14, 17, 18, 20 y 22 empleando técnicas de hibridación in situ fluorescente en interfase (iFISH), y su relación con las características clínico-biológicas y evolutivas de la enfermedad.

### Resultados.

Los tumores metastásicos (versus no metastásicos) mostraron un marcado predominio de afectación ganglionar y niveles elevados de CEA (>7.5 ng/ml) y un perfil genético similar a los tumores no metastásicos. El análisis multivariante de los factores pronósticos para la supervivencia global de la enfermedad mostró que los niveles del CEA al diagnóstico junto con las anomalías numéricas/estructurales de las regiones cromosómicas 17p11.2 y 22q11 detectadas en el tumor primario, constituyen la mejor combinación de parámetros individuales a la hora de predecir la supervivencia global en pacientes con CCR esporádico. En base a estas variables, todos los pacientes que cumplían con al menos dos de estos 3 factores pronósticos adversos habían fallecido a los 5 años tras la cirugía, mientras que todos los pacientes que presentaban una puntuación de cero estaban vivos a los 5 años de la cirugía.

### Conclusiones.

Los resultados de este estudio muestran que la presencia de anomalías numéricas/estructurales de las regiones cromosómicas 17p11.2 y 22q11 constituyen factores pronósticos adversos en CCR esporádico. Además, la combinación de estas dos variables con niveles elevados de CEA, permite identificar, ya en el momento de diagnóstico, distintos grupos de pacientes con CCR esporádico con diferente supervivencia global.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 115**

### DETERMINACIÓN DE MUTACIONES EN EL GEN KRAS MEDIANTE PCR CUANTITATIVA

*Autor/a/s: Veas-Peréz de Tudela, B; Sánchez Baeza, E; Escamez Martínez, T; Parra Montoya, A; Martínez Marín, R; Martínez Barba, E; Júdez Gutiérrez, J.*

*Centro de trabajo: Biobanc-Mur Nodo 1 Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca Localidad: El Palmar (Murcia)*

*Correo electrónico del primer firmante: belen\_veas\_perez\_de\_tudela@hotmail.com*

### Introducción:

Con la implementación de nuevas herramientas terapéuticas basadas en anticuerpos monoclonales frente al Receptor del Factor Crecimiento Epidérmico (EGFR), el conocimiento del estado mutacional del gen KRAS es hoy en día un factor clave para la toma de decisiones terapéuticas debido a su valor predictivo

negativo de respuesta al uso de estos tratamientos. Este hecho ha potenciado la necesidad de la implementación de dichas determinaciones de manera estandarizada dentro de la práctica asistencial.

En nuestro laboratorio, realizamos el análisis de las mutaciones del gen KRAS mediante la técnica de PCR a tiempo real o cuantitativa (qPCR) a partir de tejido parafinado y citologías, siempre en la zona seleccionada por el patólogo.

La PCR cuantitativa detecta en tiempo real la amplificación de los fragmentos de ADN de nuestro interés. Esta técnica se utiliza para diagnóstico molecular en el estudio de dianas terapéuticas.

Para realizar esta detección se utiliza un fragmento de ADN (sonda) complementario a la región del ADN que queremos amplificar. Esta sonda lleva adherida una molécula fluorescente y otra molécula que inhibe esta fluorescencia (quencher), de tal forma que sólo cuando la sonda es desplazada de su sitio por acción de la ADN polimerasa la molécula fluorescente se libera de la acción del quencher y emite fluorescencia al ser iluminada con un láser. La cuantificación de la fluorescencia emitida durante cada ciclo de la PCR será proporcional a la cantidad de ADN que se está amplificando.

### Objetivo:

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

### Materiales y Métodos:

Hemos realizado el estudio en 22 muestras (14 bloques de parafina y 8 citologías), siguiendo el siguiente procedimiento técnico: cortar el tejido de 2-3 secciones a 5µm o raspar en caso de la citología; desparafinización, digestión enzimática, extracción automática del ADN, comprobación de calidad del ADN extraído midiendo tanto su concentración como su pureza, y normalizando las muestras en un rango de 15 a 50 ngr/µl.

La técnica de qPCR permite la detección de siete mutaciones somáticas localizadas en los codones 12 y 13, del gen KRAS. Es un procedimiento que consta de dos pasos. El primer paso consiste en la valoración del ADN total de la muestra con el rendimiento del ensayo control (amplifica una región de exón 4 del gen KRAS); con el segundo paso se completa el ensayo de mutación (8 ensayos de PCR) para determinar la presencia o ausencia de ADN mutado.

### Resultados:

De las 22 muestras analizadas, se detectaron mutaciones en 11 casos, lo que supone el 50% del total de las muestras.

### Conclusiones:

El control de la calidad de ADN de las muestras y la normalización de la concentración para el uso de la cantidad mínima necesaria para el correcto funcionamiento de la técnica de qPCR permite obtener resultados fiables y robustos con una mínima cantidad de muestra, asegurando tener suficiente ADN para otras determinaciones moleculares que pudiesen ser necesarias.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 121**

### CORRELACIÓN ENTRE LESIÓN DISPLÁSICA Y VPH EN PACIENTES CON LESIONES MÚLTIPLES CERVICALES

*Autor/a/s: Castro Val Paz, Baltasar Moreira Mª Luz, Gonzalez Herbón José Mª, Santín Piedrafita Engracia, Turiel Vicente Rosario, Alonso Monje Ana Luisa, Rodríguez Casado Lourdes, Fernandez Hevia Bárbara, Rodríguez Fernandez Andrea, Rodríguez Vidal Eva, Salas Valián José Santos.*

*Centro de trabajo: COMPLEJO ASISTENCIAL UNIVERSITARIO DE LEÓN Localidad: LEÓN*

*Correo electrónico del primer firmante: paira88@hotmail.com*

### Introducción:

Es sobradamente conocido el papel causal del Papilomavirus (VPH) en el desarrollo de lesiones displásicas de cérvix uterino, aunque solo algunos tipos de VPH, conocidos como de alto riesgo oncológico, son capaces de producir lesiones displásicas de alto grado.

Entre un 15-40 % de las pacientes con lesiones de alto grado presentan infección por más de un tipo de VPH.

Recientemente, en estas pacientes con varios virus simultáneos, y por medio de técnicas de disección láser, se ha correlacionado cada lesión histológica a un tipo distinto de virus, lo que han denominado "un virus, una lesión".



## Objetivos:

En el presente trabajo pretendemos comprobar si lesiones, claramente diferenciadas como son las lesiones escamosas y glandulares, simultáneas en cérvix, son producidas por distintos tipos de VPH.

## Material y Métodos:

Para evitar subjetividad en el diagnóstico de lesiones escamosas de distinto grado, en este estudio recopilamos las lesiones simultáneas glandulares y escamosas superiores a CIN II, diagnosticadas en nuestro Servicio sobre piezas de conización o histerectomía, en el periodo 2000-2012 inclusive.

Se recogen 14 casos, de los que 5 son histerectomías y 9 conizaciones.

Se hace detección y tipificación de VPH en las áreas glandulares y en las escamosas, por separado, para lo cual se procede de la siguiente forma:

- 1.-Selección en el corte de Hematoxilina Eosina (HE) de las áreas glandular y escamosa sobre las que se hará la detección de VPH.
- 2.-Localizar esas áreas en el bloque de parafina original y confeccionar dos bloques separados, uno con el área glandular y otro con la zona escamosa.
- 3.-Hacer cortes de los nuevos bloques con la "técnica de sandwich": primer corte para HE, siguientes cortes para usar en la detección y amplificación de VPH por PCR y último corte para HE. Los cortes para HE nos sirven para comprobar que entre el primero y último cortes no se ha perdido la lesión, ni ha aparecido otra nueva.
- 4.-Realización de la detección y tipificación de VPH por PCR (CLART® HPV2) en ambos bloques.

## Resultados:

De los 14 casos en tres se identificaron virus dobles, en dos de ellos un virus en la lesión escamosa y otro en la glandular (VPH 16 y VPH 31) aunque sin especificidad ya que en un caso el VPH 16 se asoció al componente escamoso y el VPH 31 al glandular y en el otro caso sucedió al revés.

Los otros 12 casos mostraron un único tipo de virus en ambas lesiones (en 10 casos el VPH 16 y en 2 casos VPH 18). En un caso la citología previa mostró un 16+68 y en la conización presentó el VPH 16 en ambas lesiones, considerando el VPH 68, de no alto riesgo, como acompañante sin producir lesión.

## Conclusiones:

- El tallado del bloque de parafina nos permite seleccionar lesiones específicas, observadas con la HE, para realizar detección y tipificación de VPH por PCR, obteniendo una buena correlación lesión-tipo de virus.
- Siempre que realicemos tallados de bloque de parafina para selección de áreas, comprobaremos que tenemos la lesión requerida por el método de sandwich, es decir realizando una tinción con HE en el primer y último corte para comprobar que se mantiene la lesión y no ha aparecido otra nueva.
- Cuando identificamos dos virus simultáneos de alto riesgo hemos comprobado que cada uno produce un tipo de lesión.
- Los virus implicados en nuestro estudio son el 16, 18 y 31, considerados de alto riesgo, pudiendo observar otros como el 68, de no alto riesgo, sin producir lesión histológica.
- Un mismo virus puede producir distintas lesiones.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 128**

### ASOCIACIÓN ENTRE EL FENOTIPO MESENQUIMAL Y LA RESISTENCIA AL CISPLATINO EN LÍNEAS CELULARES DE CARCINOMA DE CABEZA Y CUELLO

*Autor/a/s: Navas Jiménez, Luis Carlos; Téllez Gabriel, Marta; Arroyo Solera, Irene; León Vintró, Xavier; Quer Agustí, Miquel; López Pousa, Antonio; Barnadas Molins, Agustí; Mangues Bafalluy, Ramon; Pavón Ribas, Miguel Angel.*

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

*Localidad: Barcelona*

*Correo electrónico del primer firmante: Inavas@santpau.cat*

## Introducción:

El carcinoma escamoso de cabeza y cuello (CECC) es el sexto cáncer más frecuente en los países desarrollados. Los factores de riesgo más importantes asociados con la enfermedad son el consumo crónico de alcohol y tabaco. El

tratamiento habitual de los pacientes con CECC es multimodal y conlleva la utilización de quimioterapia, generalmente basada en cisplatino, radioterapia y/o cirugía. El tratamiento con cisplatino en enfermos de CECC conduce a las células tumorales a la muerte, sin embargo, algunas presentan resistencia intrínseca o adquieren mecanismos de resistencia al tratamiento. El desarrollo de marcadores moleculares predictores de la respuesta a la quimioterapia podría ayudar a seleccionar el tratamiento más útil para cada paciente y mejorar de este modo la eficacia de la terapia antitumoral.

En un estudio previo de microarrays realizado en nuestro laboratorio, diferenciamos tres subtipos de tumores de CECC con diferentes patrones de expresión génica que se asociaron con la evolución clínica de los pacientes. El subtipo tumoral de peor pronóstico presentaba un menor grado de diferenciación y sobre-expresión de genes implicados en el proceso de transición epitelio-mesénquima (TEM).

## Objetivo:

El propósito de este estudio es determinar, en un panel de líneas celulares de CECC, la asociación entre el fenotipo mesenquimal y la resistencia al cisplatino de las células de CECC.

## Material y Métodos:

Observamos la morfología de un panel de líneas celulares de CECC (UM-SCC-22B, UM-SCC-74B, FaDu, SCC-9, SCC-25, UM-SCC-22A) al microscopio visible en crecimiento exponencial. En el mismo grupo de líneas celulares evaluamos los niveles de expresión de proteína de Vimentina (marcador mesenquimal), N-cadherina (marcador mesenquimal) y E-cadherina (marcador epitelial), mediante Western Blot e inmunocitoquímica. Realizamos ensayos de citotoxicidad mediante XTT con un rango de concentraciones de cisplatino crecientes (2.5-40 µM) durante 48h para calcular la concentración de fármaco que inhibe el crecimiento del 50% de las células (CI50). Finalmente, mediante tinción de DAPI evaluamos si el tratamiento con cisplatino durante 24h a una concentración CI50 inducía muerte por apoptosis en las diferentes líneas tumorales.

## Resultados:

Visualizamos las líneas de CECC en el microscopio óptico, según la morfología de las células pudimos diferenciar dos grupos; las líneas celulares SCC-9 y UM-SCC-74B presentaban un aspecto mesenquimal, fusiforme y crecimiento disperso, mientras que el resto de líneas celulares observadas presentaban un aspecto epitelial y crecían formando agrupaciones celulares de mayor densidad.

Posteriormente, en el análisis de expresión de proteínas por Western Blot pudimos observar que las líneas SCC-9 y UM-SCC-74B habían perdido la expresión de E-cadherina (marcador epitelial) y en cambio expresaban Vimentina y N-cadherina (marcadores mesenquimales). Por el contrario, el resto de líneas celulares mostraban expresión del marcador epitelial E-cadherina, pero no expresaban ni Vimentina ni N-cadherina.

La tinción de inmunocitoquímica nos confirmó los resultados observados mediante Western Blot. Las líneas SCC-9 y UM-SCC-74B habían perdido la expresión del marcador epitelial E-cadherina y expresaban Vimentina y N-cadherina. Las líneas SCC25 y FaDu presentaban expresión tanto de marcadores epiteliales (E-cadherina) como de marcadores mesenquimales (N-cadherina). El resto de líneas expresaban E-cadherina.

En el ensayo de citotoxicidad identificamos una línea celular resistente al fármaco, SCC-9, que es la que presentaba un fenotipo mesenquimal y aquellas líneas que eran sensibles al cisplatino, UM-SCC-22A y UM-SCC-22B, eran aquellas que conservaban un fenotipo epitelial.

Con el experimento de apoptosis por tinción nuclear con DAPI pudimos observar condensación y fragmentación nuclear en todas las líneas celulares de CECC al ser tratadas con una CI50 durante 24h con cisplatino, pero no observamos diferencias significativas en el número de núcleos apoptóticos.

## Conclusión:

En consonancia con los resultados obtenidos, en un estudio previo de microarrays en muestras de pacientes, hemos identificado dos subtipos de líneas celulares de carcinoma escamoso de cabeza y cuello. Por una parte dos líneas celulares, UM-SCC-22A y UM-SCC-22B, que mantienen el fenotipo epitelial y por tanto no han sufrido transición epitelio-mesénquima, son las más sensibles al tratamiento con cisplatino. Por el contrario, la línea celular SCC-9 la cual ha sufrido transición epitelio-mesénquima y por tanto tiene un fenotipo mesenquimal, es la línea más resistente al fármaco.

## ESTUDIO DE BIOMARCADORES EN CÁNCER DE COLORECTAL CON Y SIN MUTACIÓN EN KRAS.

Autor/a/s: BÁRBARA FERNÁNDEZ HEVIA, RAQUEL GONZÁLEZ MARTÍNEZ, ANDREA RODRIGUEZ FERNÁNDEZ, CRUZ RODIL ÁLVAREZ, PAZ CASTRO VAL, M<sup>a</sup> LUZ BALTASAR MOREIRA, M<sup>a</sup> ROSARIO TURIÉ VICENTE, JOSE MARÍA GONZÁLEZ HERBÓN, ENGRACIA SANTÍN PIEDRAFITA, EMILIANO HONRADO FRANCO

Centro de trabajo: COMPLEJO ASISTENCIAL UNIVERSITARIO DE LEÓN  
Localidad: LEÓN

Correo electrónico del primer firmante: yancobar@hotmail.com

### Introducción:

Los pacientes con cáncer colorrectal metastático, están siendo tratados con terapia anti-EGFR, como cetuximab. Muchos estudios muestran la importancia de la determinación del estado de la mutación del gen KRAS, ya que los pacientes que son positivos para la mutación del gen KRAS, es poco probable que se beneficien de estos anticuerpos monoclonales anti-EGFR.

### Objetivos:

Los carcinomas con mutación en KRAS, constituyen el 35-40% de todos los carcinomas colorrectales, pero poco se sabe sobre sus características. El objetivo de este estudio fue tipificar las características morfológicas y moleculares mediante biomarcadores de los tumores con mutación en KRAS y compararlos con los tumores no mutados. Además, analizamos como influye en la supervivencia la expresión de los diferentes biomarcadores, así como el estatus mutacional de KRAS.

### Material y Métodos:

Partimos de 73 adenocarcinomas de colon a los que previamente se les había analizado la mutación de KRAS, mediante PCR en tiempo real y la tecnología TaqMelt cobas® 4800 de Roche. Estos tumores fueron introducidos en un tissue array siguiendo las indicaciones que J. Kononen y colaboradores publicaron en 1998, utilizando dos cilindros de 1mm por cada tumor. Posteriormente los tissue arrays, se tiñeron con diferentes biomarcadores inmunohistoquímicos: P53, Ciclina D1, Ki67, Racemasa, CK7 CK20, CDX2, PAX8, MLH6, MSH2, MLH1, PMS2, e hibridación in situ para el gen HER-2 mediante SISH. También estudiamos las características histológicas y tamaño de los tumores

### Resultados:

En base a la morfología, los tumores con mutación en KRAS, son más frecuente mucinosos (70% vs. 30%) y menos frecuente tienen necrosis confluyente (20% vs. 80%). En cuanto a los biomarcadores, encontramos amplificación del gen HER-2 en 12 tumores (17%), y polisomía en 13 (18%), de los cuales, 10 y 9 respectivamente, mostraban mutación para KRAS. Las proteínas de reparación se encontraban conservadas en todos los tumores. Solamente 7 tumores mostraban pérdida de PMS2 (4 mutados y 3 no mutados). El resto de los biomarcadores, no mostraban diferencias estadísticamente significativas.

En cuanto al análisis de la supervivencia, los pacientes con tumores KRAS mutados tenían mejor supervivencia, 54 vs. 44 meses, aunque estas diferencias, no eran estadísticamente significativas. La expresión de racemasa es un factor de buen pronóstico independiente de la mutación de KRAS con supervivencias de 57 vs. 36 meses (P .006), pero mejora el pronóstico si los tumores muestran además, mutación en KRAS, de tal manera que la supervivencia pasa de 57 a 66 meses (P .002). Los tumores que perdían PMS2, mostraban una peor supervivencia 20 vs. 52 meses, independientemente de la mutación en KRAS (P .002).

### Conclusiones:

Podemos caracterizar los tumores colorrectales con y sin mutación mediante el estudio morfológico y de biomarcadores.

Los tumores con mutación en KRAS, son más frecuentemente mucinosos, y los no mutados, muestran marcada necrosis intraglandular con destrucción de las mismas. Los tumores con mutación en KRAS, muestran muy frecuentemente amplificación 27% y polisomía 24%, para el gen HER-2. Por lo tanto, estos tumores, serían susceptibles de tratamiento con anticuerpos anti-HER-2.

La expresión de racemasa, puede ser un marcador de buen pronóstico en cáncer colorrectal, y principalmente en los casos que además, muestran mutación en KRAS.

## HETEROGENEIDAD INTRATUMORAL DE LA AMPLIFICACIÓN DE FGFR1 Y SOX2 EN EL CARCINOMA ESCAMOSO DE PULMÓN.

Autor/a/s: María Pérez Cano, Montse Tierno Garcia, Mónica Botia Castillo, José Luis Ramírez, Pedro Méndez, Teresa Moran, Amaya Gascó, José Luis Mate, Miquel Taron y Rafael Rosell.

Centro de trabajo: Institut Català D'Oncologia - Institut Recerca Biomèdica Germans Trias i Pujol. Localidad: Badalona, Barcelona.

Correo electrónico del primer firmante: maripck@gmail.com

### Introducción:

El cáncer de pulmón de célula no pequeña (CPCNP) representa el 85% de los diagnósticos de cáncer de pulmón. Aproximadamente 1,38 millones de personas mueren cada año en todo el mundo de esta enfermedad. El carcinoma escamoso de pulmón (CESP) representa el 25% de todos los casos de CPCNP (1). A diferencia del adenocarcinoma de no fumador, en el CESP no existe ningún biomarcador predictivo. El gen que codifica para el receptor de crecimiento fibroblástico 1 (en inglés FGFR1), está amplificado aproximadamente en el 15-25% de los pacientes. Esta amplificación génica está asociada a altos niveles de la proteína y una mayor actividad proliferativa, que se revierte tanto in vitro como in vivo con inhibidores tirosina-cinasa específicos (2-4). SOX2 es un factor de transcripción que juega un papel clave en el desarrollo embrionario del árbol bronquial y pulmón. En el adulto regula la homeostasis epitelial de vías respiratorias. SOX2 también está amplificado en más de un 40% de los tumores escamosos de pulmón (5-8). Los tumores genéticamente heterogéneos tiene peor pronóstico que los homogéneos y resultan mucho más problemáticos a la hora de abordarlos terapéuticamente.

### Material y Métodos:

Se analizó la dosis génica de FGFR1, SOX2, PDGFRa, KDR, PIK3CA, EGFR, MET and AXL mediante multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) en 52 tumores escamosos de pulmón. Las células malignas se microdisecionaron para evitar la contaminación del estroma adyacente, a partir de cortes histológicos de 4 µm de tejido fijado en formol e incluido en parafina. Para estudiar la heterogeneidad tumoral, se analizó la dosis génica en diferentes regiones de un mismo tumor en seis casos independientes. En dos de estos casos también pudimos estudiar la heterogeneidad de diferentes biopsias/piezas quirúrgicas del mismo paciente. Y en otros dos se pudo analizar junto a las diferentes áreas tumorales, los ganglios metastásicos.

El ADN<sub>g</sub> se aisló mediante el método de fenol:cloroformo:alcohol isoamílico. La MLPA de cada una de las muestras, se procesó en triplicados independientes. En cada réplica se cargó 50-100 ng de ADN<sub>g</sub>. Para cada gen se diseñaron dos juegos de sondas de MLPA independientes. Los resultados de la cuantificación de la dosis génica se obtuvieron relativizando los valores de MLPA de cada muestra respecto a los valores de un ADN<sub>g</sub> de un donante sano utilizado como referencia.

### Resultados:

En las 52 muestras analizadas observamos una baja y alta amplificación de FGFR1 en 7,69 y 19,23%, de SOX2 en el 13,46 y 61,54% respectivamente. Cabe destacar que cinco de los seis casos mostraron una pronunciada heterogeneidad intratumoral de dosis génica de los genes analizados.

### Conclusiones:

Los porcentajes de amplificación génica encontrados son muy similares a los descritos previamente. Los datos de heterogeneidad obtenidos en nuestro estudio demuestran que el diagnóstico molecular del carcinoma escamoso de pulmón debe incluir un muestreo de diferentes regiones tumorales. Este algoritmo de diagnóstico molecular de dosis génica debe tenerse en cuenta en ensayos clínicos donde los pacientes serán seleccionados para ser tratados con inhibidores específicos anti-FGFR1, cuando sean portadores de la amplificación del gen.

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. 2010. Int J Cancer 127: 2893-917
2. Heist RS, Mino-Kenudson M, Sequist LV, Tammireddy S, Morrissey L, et al. 2012. J Thorac Oncol 7: 1775-80
3. Dutt A, Ramos AH, Hammerman PS, Mermel C, Cho J, et al. 2011. PLoS One 6: e20351
4. Goeke F, Franzen A, Menon R, Goltz D, Kirsten R, et al. 2012. Chest

5. Wilbertz T, Wagner P, Petersen K, Stiedl AC, Scheble VJ, et al. 2011. Mod Pathol 24: 944-53
6. Bass AJ, Watanabe H, Mermel CH, Yu S, Perner S, et al. 2009. Nat Genet 41: 1238-42
7. Husonen T, Dali S, Exinger J, Monga B, Jost B, et al. 2010. PLoS One 5: e8960
8. McCaughan F, Pole JC, Bankier AT, Konfortov BA, Carroll B, et al. 2010. Am J Respir Crit Care Med 182: 83-91

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 161**

### **UTILIDAD DE LA TÉCNICA DE LA DETERMINACIÓN DE INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES EN EL ESTUDIO DE HNPCC (SÍNDROME DE LYNCH)**

*Autor/a/s: Jose Antonio Vazquez, Mari Carmen Ramos, Olga Moreno, Rosa maria Rodriguez, Ruben Carrera, Francisco Javier Andreu*

*Centro de trabajo: UDIAT Hospital Universitario Parc Tauli Localidad: Sabadell*

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

#### **Introducción:**

El síndrome de Lynch está causado por la mutación inactivadora heterocigota en uno de los cuatro genes principales reparadores del DNA (MMR) —MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2. Es responsable del 1-5% de todos los cánceres colo-rectales, pudiéndose presentar en edades más tempranas que el cáncer esporádico, de forma aislada (Síndrome de Lynch, tipo I) o asociado a cánceres extracolónicos (endometrio, vías urinarias altas, estómago, etc., conformando familias de Síndrome de Lynch, tipo II). El test genético para mutaciones de los genes responsables, guiado por la determinación inmunohistoquímica de pérdida de expresión de los enzimas correspondientes, tiene un rendimiento aceptable para casos con alta sospecha clínica (criterios de Ámsterdam). Para el estudio de familias con menor grado de sospecha (criterios de Bethesda) el algoritmo más aceptado es la prueba de determinación de inestabilidad de microsatélites (MSI) seguido de estudio inmunohistoquímico de expresión (IHQ), en los casos inestables. La incorporación de la técnica molecular de estudio de inestabilidad de microsatélites en el Servicio de Anatomía Patológica permite un abordaje eficiente en el cribaje de pacientes con sospecha clínica de Síndrome de Lynch, limitando la indicación de estudio IHQ y test genético mutacional en línea germinal.

#### **Objetivos:**

- 1) Comprobar la efectividad de la técnica molecular de estudio de MSI en material parafinado, para la selección de pacientes susceptibles de estudio mutacional; y
- 2) Evaluar la precisión diagnóstica de la prueba.

#### **Material y Métodos:**

1) Pacientes. Se estudian un total de 252 casos con sospecha clínica de Síndrome de Lynch, entre los años 2009-2012, procedentes del Servicio de Consejo Genético del Hospital de Sabadell; 2) Extracción de DNA mediante el kit QIAmp DNA FFPE Tissue Kit (QIAgen®), a partir de bloque de parafina, con secciones de micrótomos (50 µm), previa selección al microscopio de áreas más representativas (macrodissección); posterior digestión overnight en proteinasa K y extracción automática con QIAcube (QIAgen®). Se considera material óptimo para análisis, cantidades de DNA ≥20ng/µl. con ratio de 260/280, entre 1.6 y 1.8; 3) Cuantificación y evaluación de la calidad del eluido, mediante Nanospectrofotómetro (Bio-Spec Nano, Shimadzu®). 4) PCR multiplex con coamplificación de microsatélites BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24 y MONO-27, así como pentanucleótidos C y D, usados como control, con kit MSI Analisis System, v.1.2 (Promega®); 5) Lectura de productos de PCR con secuenciador 3130 (Applied Biosystems®); 6) Evaluación del perfil de análisis de fragmentos con Peak Scanner Software, v.1.0 (Applied Biosystems®). Se definió MSI-H (positividad de alta probabilidad de inestabilidad) a casos con ≥ 2 microsatélites con cambio de longitud de los alelos; MSI-L (baja probabilidad de inestabilidad) a casos con 1 microsatélite afecto, no correspondiente a polimorfismo; y MSI-S (estabilidad de microsatélites) a casos sin cambio en la longitud de los alelos; y 7) Análisis descriptivo de resultados de MSI, con comparación de los resultados obtenidos en el análisis IHQ de expresión de enzimas correspondientes.

#### **Resultados:**

1) La prueba resultó efectiva en 244 casos (96,8%), siendo 8 estudios no informativos. Entre los casos valorables, se determinaron 215 MSI-S (88%), 1 MSI-L (0,4%); y 29 MSI-H (11,6%); 2) Los 29 casos MSI-H mostraron en el

estudio IHQ: negatividad para hMLH1/hPMS2 en 8 (en todos, salvo uno, BRAF wild-type); negatividad para hMSH2/hMSH6 en 6; negatividad aislada para hMSH6 en 3; negatividad aislada para hMSH2 en 2; negatividad aislada para hPMS2 en 1; negatividad para hMSH6 y hPMS2 en 1; y negatividad para las cuatro enzimas en 1; en 7 casos no se disponía de resultado de IHQ. 3) En 78 casos se procedió a estudio conjunto con IHQ y MSI, detectándose falta de concordancia en 9 casos: todos ellos IHQ con silenciación para alguno de los enzimas y MSI-S (en 8 casos la MSI se había efectuado sobre tejido tumoral extracolónico, y en el caso restante, se obtuvo el DNA de tumor colónico almacenado durante más de 15 años). En ningún caso se dio la falta de concordancia contraria, IHQ positiva y MSI-H.

#### **Conclusiones.**

1) La técnica de MSI es altamente efectiva (96,8%) como método de estudio de pacientes con sospecha de síndrome de Lynch, utilizando material procedente de bloques de parafina y kit comercial de PCR multiplex; 2) La técnica de MSI es altamente específica, no observándose casos falsos positivos; 3) Los falsos negativos de la técnica de MSI se debieron, o bien a análisis sobre tejido tumoral extracolónico, para los que la selección de microsatélites se ha descrito como subóptima, o a la utilización de bloques almacenados durante largos periodos de tiempo, con DNA altamente fragmentado.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 221**

### **EVALUACION DE LA ESTANDARIZACION DE LAS TECNICAS INMUNOHISTOQUIMICAS PARA PROTEINAS RELACIONADAS CON APOPTOSIS Y CICLO CELULAR EN MUCOSA DE COLON.**

*Autor/a/s: ESTÉBANEZ GALLO ÁNGEL, PUMAREJO GOMEZ ENRIQUETA, DIAZ GARCIA MARIA DEL PILAR, HURTADO MARIJUAN ISABEL, SANCHEZ SALCES MARIA TERESA, MAYORGA FERNANDEZ MARTA, FERNANDEZ FERNANDEZ FIDEL*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO MARQUES DE VALDECILLA Localidad: SANTANDER*

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

#### **Introducción:**

La aplicación de las técnicas de inmunohistoquímica es un hecho totalmente estandarizado en todos los laboratorios de patología. El estudio de algunas patologías se está volviendo cada vez más complejo al aumentar el número de técnicas y anticuerpos utilizados. Por ello resulta cada vez más útil la valoración de anticuerpos críticos para el diagnóstico y demostración de dianas terapéuticas. La mutación del p53 se ha demostrado con frecuencia en múltiples tumores. Está relacionado con la apoptosis y el ciclo celular.

#### **Objetivos:**

Evaluación de la técnica inmunohistoquímica, según tiempo de fijación, recuperación de antígenos y protocolo de tinción, en mucosa del colon normal, hiperplásica, adenomatosa y adenocarcinoma, siguiendo la evolución de los cambios en la mucosa intestinal en su progresión hacia el adenocarcinoma.

#### **Material y metodos:**

Se estudian 23 muestras de colon, con mucosa normal todas ellas (control), hiperplásica (3), adenomatosa (18) y con adenocarcinoma (2). Se hace un estudio inmunohistoquímico del p53 y proteínas relacionadas con el ciclo celular (Ki67, p21, p27, p16) para estudiar los cambios que se producen en la progresión hacia tumor. Todo ello asegurando las horas de fijación de la muestra así como el tipo de recuperación antigénica y tiempos de tinción.

#### **Resultados:**

El p53 resultó positivo en todos los adenocarcinomas, así como en los adenomas tubulares. Resultó negativo en pólipos hiperplásicos y en muestras normales. En las zonas hiperplásicas de los adenomas hay núcleos positivos. El Ki-67 muestra mayor índice de proliferación en adenocarcinomas y adenomas tubulares que en los tubulo-vellosos, hiperplásicas y normales. El p21 es mayor en adenomas y adenocarcinomas, sin embargo se ven muestras hiperplásicas con tres cruces. El p27 muestra mayor intensidad en adenomas. La tinción para p16 reveló áreas inespecíficas que llevaron a la revisión de la técnica.



## Conclusiones

- El control de tiempo de fijación es importante para el buen resultado de la técnica.
- A pesar de la protocolización de las técnicas del laboratorio es importante conocer que estamos expuestos a cambios continuos sobre las temperaturas y fijadores por lo que es necesario un control estricto sobre la técnica.
- La utilización conjunta de estos inmunomarcadores puede ser útil para conocer la biología de los tumores colorrectales y de las lesiones precursoras de los mismos, sin embargo la interpretación debe realizarse cautelosamente, asegurando siempre y en todo momento la calidad del procesado previo.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 222**

### ESTUDIO DE LA INESTABILIDAD MICROSATÉLITE CON TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS EN ADENOCARCINOMAS DE COLON.

*Autor/a/s: PUMAREJO GOMEZ ENRIQUETA, DIAZ GARCIA MARIA DEL PILAR, ESTEBANEZ GALLO ANGEL, HURTADO MARIJUAN ISABEL, SANCHEZ SALCES, MARÍA TERESA, MAYORGA FERNANDEZ MARTA, FERNANDEZ FERNANDEZ FIDEL*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO MARQUES DE VALDECILLA  
Localidad: SANTANDER*

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

#### Introducción:

El estudio de la inestabilidad microsatélite puede ser realizado con inmunohistoquímica o con secuenciación de DNA. Actualmente se realiza con inmunohistoquímica las cuatro proteínas básicas: MHH2, MSH6, MLH1 y PMS2. Este estudio es un primer escalón del despistaje de cáncer hereditario de Síndrome de Lynch en familias con criterios. Además es importante para el tratamiento, ya que podemos esperar una mejor respuesta con tratamientos adyuvantes.

#### Objetivos:

Evaluación de la técnica inmunohistoquímica para inestabilidad en pacientes con adenocarcinoma de colon mediante el uso de controles internos.

#### Material y métodos:

Se estudian muestras de colon de 7 pacientes con adenocarcinoma. Se hace un estudio inmunohistoquímico de cuatro proteínas relacionadas con la inestabilidad microsatélite: MSH6, MSH2, MLH1 y PMS2, en relación con un área normal de la mucosa y que contiene linfocitos (control interno). Se realiza control de la técnica especialmente en aquellos casos en los que la tinción no es buena.

#### Resultados:

Las muestras correspondían a 7 pacientes de edades comprendidas entre 48 y 80 años (media 65,5 años). Cuatro de ellos mujeres y tres varones. Todos ellos eran adenocarcinomas con patrón tubular excepto uno que era de patrón sólido. Tres de ellos mostraban áreas mucinosas al menos del 20%. Todos los pacientes mostraron núcleos positivos en mucosa normal adyacente y en linfocitos acompañantes. Solo tres de los pacientes mostraron inestabilidad microsatélite. De ellos dos pacientes eran menores de 50 años y mostraban pérdida de expresión de dos de las proteínas. La inestabilidad más frecuente era en MLH1 y PMS2. No había diferencias entre los estadios pT. En todas las tinciones se comprobó la tinción nuclear positiva de la mucosa normal así como linfocitos acompañantes. En algunos de los casos donde la tinción del control fue negativa o débil se comprobaron las condiciones de la técnica, siendo la fijación el único de los parámetros que influye en la misma.

#### Conclusiones:

- El estudio de la inestabilidad microsatélite es posible realizarlo con inmunohistoquímica.
- Es una técnica sencilla de realizar en prácticamente todos los laboratorios y es esencial para el tratamiento y el consejo genético.
- Es necesaria su realización para programar determinados tratamientos de quimioterapia.
- El control de la fijación de las piezas es esencial para un buen resultado inmunohistoquímico.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 228**

### PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS PARA EL ANÁLISIS DEL BIOMARCADOR KRAS EN EL CÁNCER DE COLON.

*Autor/a/s: M<sup>a</sup> José Hernández Barrera, Ana Rosa Santos Pérez, Michele Biscuola.*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DEL ROCÍO. Localidad: SEVILLA*

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

#### Introducción:

El estudio de biomarcadores para el cáncer de colon precisa optimizar los recursos disponibles tanto del material histológico como del tiempo de respuesta del estudio. Hoy en día se dispone de numerosos kits comerciales, que mediante diferentes técnicas y características distintas de especificidad/sensibilidad, nos permiten analizar muestras endoscópicas, citologías o piezas de resección detectando hasta el 1% de alelos mutados del ADN tumoral.

#### Objetivos:

Comparar dos técnicas diferentes de detección de las mutaciones del biomarcador KRAS, analizando desde un punto de vista más técnico, el tiempo, el manejo, las ventajas e inconvenientes del proceso de ambas.

#### Material y métodos:

Se seleccionaron 24 muestras de carcinoma de colon para estudio en paralelo de las mutaciones KRAS. La extracción de ácidos nucleicos se realizó mediante el Kit QIAmp DNA FFPE Tissue (QIAGEN®). Para la detección de las mutaciones KRAS utilizamos un kit comerciales basado en PCR en Tiempo Real Therascreen KRAS RGQ PCR (QIAGEN®) y otro kit de la misma casa comercial basado en técnica de secuenciación therascreen KRAS Pyro Kit (QIAGEN®).

#### Resultados:

Todas las muestras fueron procesadas satisfactoriamente obteniendo los mismos resultados con los dos métodos utilizados en paralelo.

#### Conclusiones:

El tiempo del proceso con Rotor-Gene Q fue unas 3 horas de duración aproximadamente, lo que determina una manipulación corta y con menos posibilidades de contaminación, mientras que con el PyroMark Q24 duró unas 10 horas, con una manipulación mas laboriosa, más pasos intermedios con consecuente aumento del riesgo de contaminación en el proceso. Siendo la especificidad y sensibilidad de las dos técnicas parecidas, finalmente decidimos introducir en nuestra rutina de laboratorio la detección de las mutaciones del gen KRAS a través de PCR en Tiempo Real.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 232**

### OPTIMIZACIÓN DE LA DETERMINACIÓN DE LAS MUTACIONES DEL GEN EGFR A PARTIR DE EXTENDIDOS CITOLÓGICOS.

*Autor/a/s: Ana Rosa Santos Pérez, M<sup>a</sup> José Hernández Barrera, Michele Biscuola.*

*Centro de trabajo: Laboratorio de Patología Molecular y Dianas Terapéuticas. HUVR.*

*Localidad: Sevilla*

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

#### Introducción:

La determinación de las mutaciones del gen EGFR en el laboratorio de patología molecular da respuesta a las necesidades de las nuevas dianas terapéuticas en oncología, haciendo uso de los recursos disponibles y en un tiempo determinado. Para su estudio es posible partir desde diferentes tipos de muestras como citologías y muestras parafinadas, cuyos procesos difieren en tiempo y características. Como centro de referencia en el estudio del gen EGFR se toman una serie de casos de cada tipo y se comparan los procedimientos para observar las ventajas e inconvenientes de cada tipo de material histológico utilizado.

#### Objetivos:

Comparación de dos tipos de muestras para el estudio del Biomarcador EGFR, en la que se analiza el manejo, el tiempo, la cantidad y calidad del ADN obtenido, así como las ventajas e inconvenientes del proceso en cada caso.



**Material y Métodos:**

Se seleccionan 50 muestras parafinadas y 50 citologías para la observación de las características y de los resultados. Para la extracción de ácidos nucleicos se utilizó el kit QIAmp DNA FFPE Tissue de QIAGEN® y las mediciones de la cantidad de ADN y las ratios 260/280 - 260/230 se realizan a través del espectrofotómetro Nanodrop 1000 (Thermo®) El estudio de las mutaciones del gen se realizó con kit comercial para PCR a tiempo real Therascreen EGFR RGQ PCR (QIAGEN®)

**Resultados:**

En nuestra experiencia, se observan diferencias en el comportamiento de los dos tipos de muestra a la hora de procesarlas y de los posteriores resultados. El proceso de extracción/purificación del ADN a partir de extendidos citológicos tiene una duración de 3-5 horas, frente al tejido en parafina que debe ser de unas 20-24 horas. Tras la medición de los ácidos nucleicos se observan ratios 260/280 sustancialmente mejores y contaminaciones e impurezas casi nulas en el caso de las citologías, aunque las cantidades varían igualmente en uno y otro caso dependiendo de la cantidad celular inicial de la muestra. Los inconvenientes encontrados suelen ser el porcentaje de células tumorales bajo y la pérdida total del material de partida.

**Conclusiones:**

Debido a los mejores parámetros analizados para determinar la calidad de ADN en las citologías, la amplificación de los productos de la PCR a tiempo real se ven favorecidos, teniendo que disminuir la cantidad de ADN en algunos casos hasta la mitad de lo que añadiríamos si fueran muestras parafinadas. Bajo nuestro punto de vista, es aconsejable que las muestras de elección sean extendidos citológicos si se dispone de ellos.

# BIOQUÍMICA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 005

## UTILIDAD DE LA DETERMINACIÓN EN SUERO DEL PROPEPTIDO LIBERADOR DE GASTRINA (PROGRP) Y ENOLASA NEURONAL ESPECÍFICA (NSE) EN EL DIAGNÓSTICO DE CÁNCER MICROCÍTICO DE PULMÓN

*Autor/a/s:* Prieto Sainz María Belén, Fuentes Rebollo Carmen, González Fernández Ana María, Bustamante Bustamante Rosa, Aguirre Gervás Beatriz, Posada Posada, Miguel Angel.

*Centro de trabajo:* Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Localidad: Valladolid

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

### Introducción:

El cáncer de pulmón microcítico (CPM) constituye el 25% de todos los cánceres de pulmón. Debido a sus características neuroendocrinas secreta Péptido Liberador de Gastrina (GRP) que en condiciones fisiológicas se encuentra en sangre en concentraciones muy bajas. Debido a su breve vida media se utiliza su precursor el propéptido liberador de gastrina (ProGRP) que es mucho más estable.

La Enolasa Neuronal Específica (NSE) es otro marcador habitualmente utilizado en el estudio del CPM. Es un enzima glucolítico con un PM de 80 kd. Se secreta en altas concentraciones en las neuronas, células neuroendocrinas y tumores derivados de este tipo de células.

Nuestro objetivo es estudiar la utilidad diagnóstica de la ProGrp en el estudio de CPM que nos ayude a diferenciarlo de otras patologías sobre todo otros tipos histológicos de cáncer de pulmón ya que su tratamiento es totalmente diferente.

### Resultados:

Se realizó un estudio estadístico utilizando las pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis. Para la ProGRP existen diferencias estadísticamente significativas según los distintos diagnósticos ( $p$ -valor $<0,001$ ). Referente a la NSE también se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ( $p$ -valor $=0,016$ ).

Los resultados obtenidos se expresan con la mediana y el rango intercuartílico en la siguiente Tabla.

Los resultados han sido obtenidos con el programa estadístico SPSS versión 17.0 para Windows.

DIAGNOSTICO	ProGRP	ENOLASA
CPM (23)	962,8-3392	24-105
CPNM (10)	107,47-392	12,5-22
Patología tumoral extrapulmonar (11)	73-56	28-75
Tumores Neuroendocrinos extrapulmonares (6)	66-20	67-299
Patología benigna (44)	84,75-45	12-10
Insuficiencia Renal (4)	121-25	13,5-13

### Material y Métodos:

Se estudiaron 98 pacientes procedentes de distintos Servicios del Hospital Clínico aunque la mayor parte eran del Servicio de Neumología. En el suero de estos pacientes se determinó ProGRP y NSE. La técnica de la ProGRP y NSE fue un ensayo inmunoquímico realizado en el Architect (Abbott) y Cobas 411 (Roche) respectivamente. Los pacientes se agruparon en las patologías indicadas abajo en la tabla, teniendo como referencia el diagnóstico de Anatomía Patológica.

Se ha estudiado el comportamiento de estos biomarcadores en las diferentes patologías teniendo en cuenta las alteraciones hepáticas y renales

### Conclusiones:

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se considera la ProGRP el marcador más útil para diferenciar el CPM de otras patologías entre ellas el CPNM. Referente a la NSE en relación con la ProGRP se eleva más en tumores neuroendocrinos extrapulmonares, siendo por ello un marcador menos específico que el anterior en el CPM.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 013

## (ESTUDIO DE LA DETERMINACIÓN DEL LITIO EN URGENCIAS)

*Autor/a/s:* Soledad Torres Ulínes; Carlota María Gómez Roman; Rosario Mejías García

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Virgen Macarena. Localidad: Sevilla

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

### Introducción:

El litio, en forma de carbonato, es un fármaco utilizado principalmente en el tratamiento de los trastornos bipolares que es una patología psiquiátrica que se caracteriza por ciclos de depresión y manía, la dosis varía en cada persona ya que depende de la edad, el estado general de salud y los fármacos que pueda estar tomando. Presenta un estrecho margen terapéutico (0,6-1,2 mmol/l), que junto a sus numerosas interacciones farmacológicas, su farmacocinética y la presencia de procesos patológicos intercurrentes, obliga a monitorizar las concentraciones plasmáticas.

Se solicita la determinación de sus niveles en suero en pacientes que, por su sintomatología, no parece que estén respondiendo al litio, ya sea porque la concentración es demasiado baja, porque el fármaco no es efectivo o porque no se lo está tomando de forma regular. También se puede pedir en aquellos pacientes que sufren efectos secundarios al litio o tienen síntomas que indican una intoxicación.

### Objetivos:

En el presente estudio vamos a realizar un análisis descriptivo y prospectivo sobre la determinación de litio en suero, solicitado a pacientes en el servicio de urgencias durante el año 2012.

### Material y Métodos:

En la base de datos del sistema informático del laboratorio hemos analizado todos aquellos pacientes del año 2012 que se les solicita una determinación de litio con carácter urgente, hemos estratificado a los pacientes en función de los distintos niveles de fármaco encontrado en suero en dosis subterapéutica, terapéutica y tóxicas.

### Resultados:

La determinación del litio en suero se realizó en un total de 110 pacientes por vía urgente, de los cuales el 54% fue del sexo femenino y el 46% del sexo masculino.

El 61% de los pacientes se encontraba en niveles terapéuticos (0,6-1,2 mmol/l), el 23% se encontraba por debajo de los niveles terapéuticos  $<0,6$  mmol/l, el 10% de los pacientes por encima del rango terapéutico  $>1,2$  mmol/l y el 6% niveles tóxicos  $>2$  mmol/l.

### Conclusiones:

Un alto porcentaje de los pacientes 23% se encontraba en niveles subterapéuticos, concuerda con el perfil que presentan estos pacientes, poco cumplidores en cuanto a la toma de la medicación.

Hemos encontrado un bajo porcentaje de pacientes 6% que presenta niveles tóxicos frente a los esperados por provenir por una vía urgente. En cuanto a la distribución de sexos no hay diferencia significativa.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 020

## COCAÍNA E INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO

*Autor/a/s:* López García Consuelo, Cardona Farriol Jéssica, Ramos Felez Ester, Pérez Nieves Elisabeth, Villajuana López Ingrid, López Gómez María, Fuster Pérez Eva María, Santos Núñez Amparo, Barallat Martínez de Osaba Jaume, Galán Ortega Amparo.

*Centro de trabajo:* Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Localidad: Badalona

*Correo electrónico del primer firmante:* jache08@hotmail.com

## Introducción y objetivo

La prevalencia de infarto agudo de miocardio (IAM) en consumidores de cocaína que consultan por dolor precordial es alrededor del 6%. Estos pacientes generalmente son jóvenes, de sexo masculino, fumadores de cigarrillos y consumidores de alcohol. Se ha evidenciado que entre el 25 y el 50% de los pacientes con IAM inducido por cocaína no presentan enfermedad arterial coronaria previa.

Las principales consecuencias del consumo de cocaína son: aumento del consumo de oxígeno al inducir taquicardia, elevación de la presión arterial, aumento de la contractilidad miocárdica e inducción de la vasoconstricción coronaria; todos estos mecanismos pueden desencadenar en IAM. La troponina I cardíaca es el marcador bioquímico aceptado por las guías de práctica clínica, la cual ha demostrado ser suficientemente sensible y específica para el diagnóstico de IAM.

El objetivo del presente estudio es establecer la relación entre la ingesta de cocaína y el infarto agudo de miocardio.

## Material y Métodos:

Estudio retrospectivo (1 de enero de 2010 a 31 de diciembre de 2012) de 114 pacientes, que tras haber consumido cocaína, acuden a urgencias por dolor precordial.

### MÉTODO:

1º Extracción de sangre en tubo con heparinato de litio.

2º Centrifugación a 3000 rpm durante 5 minutos.

3º Con el plasma obtenido, determinación de Troponina I cardíaca por Dimension® RXL Max.

4º Determinación cualitativa de metabolitos de la cocaína en orina por Dimension® RXL Max.

El sistema de química Dimension® RXL Max con el módulo de inmunoensayo heterogéneo, basado en el principio "sándwich", es una prueba de diagnóstico in vitro diseñada para medir cuantitativamente los niveles de troponina I cardíaca.

La determinación de metabolitos de la cocaína en orina se realiza en sistema automatizado Dimension® RXL Max. Se basa en la competencia por los puntos de unión de los anticuerpos entre la droga de la muestra y la droga marcada con la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH).

### RESULTADOS

Un 11.4% (13 pacientes) de los 114 (95 hombres y 19 mujeres) pacientes que consultaron por dolor precordial tras haber consumido cocaína sufrieron un IAM (Troponina I cardíaca positiva).

De los 13 (11.4%) pacientes infartados, 11 (85%) eran hombres y 2 (15%) mujeres.

La edad media de estos pacientes era de 42,23 años (rango 26-65).

## Conclusiones:

Esta alta incidencia de IAM contrasta con la observada en otros estudios que muestran una amplia variabilidad, entre el 1 y el 16%. Diferencias en el tipo de población estudiada, como edad elevada, puede explicar la mayor incidencia de IAM en nuestra serie.

Podemos concluir diciendo que el infarto agudo de miocardio está directamente relacionado con la ingesta de cocaína.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 021**

## ESTUDIO DE MUESTRAS HEMOLIZADAS EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS.

*Autor/a/s: Rodríguez Camacho, María Luisa. Ruiz Ferri, Amparo. Gil Ginés, Sebastián.*

*Centro de trabajo: Hospital Comarcal de Melilla. Localidad: Melilla*

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

## Introducción:

La hemólisis se define como la liberación de los componentes intracelulares de los eritrocitos y otras células sanguíneas al espacio extracelular de la sangre (suero o plasma).

La hemólisis es un efecto preanalítico evitable en la mayoría de los casos. Su aparición se debe a la técnica de extracción empleada y a las condiciones de transporte y preparación de las muestras.

Su presencia produce error en muchas determinaciones habituales en química clínica, en muchos casos por la mezcla del contenido intraeritrocitario y en algún caso por el efecto interferente de componentes del hematíe, como la hemoglobina.

En los laboratorios es necesario detectar y cuantificar la hemólisis en las muestras de forma estandarizada.

## Objetivos.

Evaluar el porcentaje de muestras hemolizadas recibidas en el Laboratorio de Urgencias del Hospital Comarcal de Melilla durante el año 2012.

## Material y Métodos:

Las muestras de suero se procesaron en un autoanalizador DxC 800 (Beckman), que permite la medida interna del índice hemolítico.

Hemos considerado una muestra como hemolizada cuando presenta un índice hemolítico mayor o igual a dos.

Siguiendo estos criterios, hemos evaluado de forma retrospectiva las incidencias preanalíticas en muestras urgentes de sueros mediante el SIL de IZASA Modulab Gold.

## Resultados.

En la siguiente tabla se exponen los resultados de incidencias por hemólisis:

Procedencia	Nº de muestras recibidas	Nº de muestras hemolizadas	% de hemólisis
Urgencias	14928	984	6.59
Hospitalizados	2484	46	1.84
Total	17412	1030	5.91

Durante el año 2012 se han recibido 17412 muestras de suero al Laboratorio de Urgencias, de las cuales 2484 eran peticiones urgentes de encamados. El porcentaje de sueros hemolizados varía ampliamente según el lugar de procedencia de las muestras: 1.84% en pacientes hospitalarios frente a 6.59% en los que fueron atendidos en urgencias.

## Conclusiones:

El mayor número de sueros hemolizados corresponde a los extraídos en urgencias. La mayoría de las causas de hemólisis se deben a una toma inadecuada de las muestras. Esto nos plantea la necesidad de implementar una metodología más rigurosa de la fase preanalítica aplicada sobre todo al área de urgencias, con la revisión de protocolos de extracción y la formación adecuada del personal.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 022**

## EL TÉCNICO ANTE LOS NUEVOS CRITERIOS DE AHORRO EN LA SANIDAD PÚBLICA MADRILEÑA.

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

*Centro de trabajo: Hospital Universitario LA PRINCESA. Localidad: MADRID*

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

## Introducción:

En los últimos años y debido a la crisis que estamos padeciendo, se ha hecho más evidente la necesidad de implementar actuaciones encaminadas a reducir el gasto e incrementar la eficiencia en la sanidad pública madrileña. Las últimas propuestas, pensadas para trabajar en red, se dirigen a centralizar las compras para lograr economías de escala; revisar los catálogos de pruebas de cada centro y racionalizar los perfiles de las peticiones analíticas, con miras a evitar pruebas obsoletas, redundantes o innecesarias; concentrar pruebas no rutinarias; conocer el coste de las determinaciones; racionalizar la derivación de pruebas entre hospitales; e incluso lograr ingresos por realizar pruebas de otras CCAA, entre otras medidas.

## Objetivo

Señalar actuaciones necesarias para llevar a cabo esas propuestas en un laboratorio de Bioquímica y mostrar cómo los técnicos pueden tomar parte activa en el proceso, todo ello de acuerdo a un sistema de costes que propicie una gestión objetiva y eficaz.

## Material y Métodos:

Un sistema de costes debe comprender, al menos: Retribuciones, Amortización y Mantenimiento, Material y Consumos. Se definen estos apartados y tareas del técnico para contribuir a su optimización.

Retribuciones (Gastos del personal que interviene en las actividades del laboratorio).

Representan la mayor parte de los costes totales.

- Definir los puestos de trabajo.
- Plantear necesidades justificadamente, con el fin de mantener la calidad de nuestros servicios y la seguridad en el trabajo.
- Emplear el tiempo de trabajo de forma responsable (honradez y método) y segura.

Amortización y Mantenimiento (Amortización: Precio/vida media útil).

- Estudiar las necesidades técnicas y de eficiencia de los equipos.
- Mantener equipos y aparatos según indica el proveedor.
- Llevar registro de: mantenimiento, limpieza, temperaturas, incidencias, etc.

Material y consumos (Reactivos y materiales usados directa e indirectamente en la realización de las pruebas).

Realizar:

- Registros de entrada y salida de reactivos y material.
- Planillas de stock de reactivos a 31 de diciembre de cada año.
- Planillas-calendario para controles y calibradores.
- Planillas de alícuotas de calibradores y controles internos y externos..
- Cuadro de frecuencias para todos los reactivos.
- Anotación de fechas de caducidad.

Resultados

Llevar a cabo los trabajos enumerados, unido al uso de los sistemas de información (estadísticas, almacén, etc.) permite:

- Prolongar la vida útil de los aparatos y mejorar su funcionamiento.
- Optimizar el stock de reactivos (cantidad y frecuencia) y así ahorrar en su consumo.
- Conocer el gasto derivado del uso de controles internos, externos y calibradores para evitar gastos innecesarios
- Conocer el coste de cada determinación y contar así con una amplia base de datos.

Todo ello aporta información necesaria para el estudio de: centralización de compras; análisis de catálogos de pruebas y de perfiles de las peticiones analíticas; concentración de pruebas no rutinarias; derivación de pruebas entre hospitales; facturación por realizar pruebas de otras CCAA; etc.

## Conclusión:

Un trabajo bien hecho, motivado por el conocimiento y participación de los técnicos en los cambios que se lleven a cabo en la gestión del laboratorio, así como en el manejo de los sistemas de información, llevaría ineludiblemente a una optimización de los costes en los laboratorios.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 024**

## EVALUACION DE UN NUEVO REACTIVO PARA LA DETERMINACION DE CALCIO TOTAL

*Autor/a/s: Alejandra Martínez Betanzos, Miren Arrieta Elorza, Nagore Larisgoitia Urquijo, Alazne Mondragón Medina y Francisco Javier Aguayo Gredilla*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario Basurto. Localidad: Bilbao*

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

## Introducción:

En el ser humano, el elemento calcio, se encuentra almacenado en un 99% en los huesos y el restante distribuido entre varios tejidos y líquidos extracelulares. Debido a la importancia y diversidad de sus funciones, la concentración de calcio (Ca) en plasma está muy regulada y su variación es pequeña, por lo que su cuantificación puede ser de gran interés para los clínicos. Recientemente se ha introducido en el mercado un nuevo método de determinación del Ca total (BAPTA) que ofrece mayor estabilidad y menor necesidad de calibraciones.

## Objetivos:

El objetivo de este estudio es evaluar este nuevo reactivo (Calcium Gen.2/Roche Ref.05168449) para la determinación de calcio total en sangre. Para ello, se evalúa la precisión intradía del nuevo reactivo y la correlación con el que anteriormente se utilizaba en nuestro laboratorio (Calcium/ Roche Ref.20763128).

## Material y Métodos:

Para determinar la precisión intradía de la nueva técnica, se utilizaron dos sueros: uno de ellos con concentración baja de calcio (7,97mg/dL) y otro alta (14,02mg/dL) con respecto al intervalo de normalidad y elegidos aleatoriamente. Se midió el calcio total diez veces en cada una de las muestras en un autoanalizador Cobas 6000 (Roche), en un mismo día, calculándose el coeficiente de variación (CV).

En cuanto al estudio de correlación, se hicieron determinaciones en treinta sueros de pacientes que acudieron a urgencias y elegidos aleatoriamente, utilizando los dos métodos en cada uno de ellos. Se compararon los resultados mediante un estudio de regresión lineal, calculándose el coeficiente de regresión de Pearson (Excel).

## Resultados:

Tras analizar los datos conseguidos en cuanto a precisión, el CV fue de 1.14% para el nivel bajo, y de 2,24% para el alto; con un CV medio de 1,69%.

En el estudio la correlación la ecuación conseguida fue la siguiente  $Ca_1 = 0,0984 + 0,9656 \cdot Ca_2$ , con un coeficiente de correlación de Pearson de 0,9431.

## Conclusiones:

- La precisión en el Cobas 6000 es buena, con un CV de 1,69%, cercano a lo recomendado por las tablas de variación biológica intraindividual.
- La correlación para las dos técnicas fue buena, con una r de Pearson y valores de la pendiente de regresión lineal cercanos a la unidad, 0,94 y 0,97 respectivamente; además de un valor para la ordenada en el origen menor de 0,1.
- Por todo esto, consideramos adecuado sustituir el método antiguo de Ca por este nuevo método, teniendo en cuenta además las ventajas en su estabilidad y calibración

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 025**

## ESTUDIO DE LAS INCIDENCIAS PREANALITICAS EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS DEL HOSPITAL VIRGEN DE LAS NIEVES DE GRANADA

*Autor/a/s: HITA SANCHEZ, María Trinidad; ANDREU PEREZ, Rosa María; RUBIO SAMOS, Concepción.*

*Centro de trabajo: LABORATORIO DE URGENCIAS DEL HOSPITAL VIRGEN DE LAS NIEVES. Localidad: GRANADA*

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

## Introducción y objetivos:

En el laboratorio de Urgencias se han reducido considerablemente los errores en la fase analítica, así que, es en la fase preanalítica donde se dan con más frecuencia, llegando a alcanzar un 60-80% de los errores totales. Además, por sus propias características, los laboratorios de urgencias son especialmente sensibles a estos errores o incidencias preanalíticas de las muestras recibidas en el laboratorio de urgencias del Hospital Virgen de las Nieves.

## Material y Métodos:

Se analizan, de forma retrospectiva y gracias a un registro en el sistema informático del laboratorio de urgencias SIL (Modulab Gold, IZASA), todas las peticiones de carácter urgente remitidas a nuestro laboratorio durante los meses agosto-diciembre 2012. Estas muestras provienen tanto del servicio de urgencias, como de la UCI y hospitalización. Se analiza el tipo de incidencia preanalítica, así como las causas más frecuentes de error.

## Resultados:

En el período estudiado se procesaron en nuestro hospital un total de 59218 peticiones de carácter urgente. Las muestras procesadas en nuestro laboratorio fueron un total de 113995 muestras, con 608225 pruebas, de las cuales 5177 tenían algún tipo de incidencia (0.85%).

La incidencia más frecuente la encontramos en las pruebas de Bioquímica (82.5%), seguida de las pruebas de orina (9.8%) y líquidos (6.7%). Destaca el bajo número de incidencias detectadas en las pruebas de Hemograma con sólo un 1%.



En lo que se refiere al tipo de incidencia más frecuente en nuestro laboratorio, destaca, muy por encima de las demás, la incidencia "Muestra Hemolizada", que llega a alcanzar el 65.2% del total de incidencias. También señalar la incidencia "Muestra insuficiente" 9.3% y "Hematuria Macroscópica" con un 6%. En el resto de las incidencias no superan el 5% del total de incidencias.

#### Conclusiones:

Gracias al registro informático en el SIL del laboratorio de las incidencias de la fase preanalítica, disponemos de datos e indicadores necesarios para la mejora del proceso. El motivo de rechazo más importante en nuestro laboratorio es "Muestra Hemolizada", por lo que podría ser útil la comunicación con los responsables de extracciones para mejorar este asunto.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 027

#### CA72.4- VALOR DE CORTE PARA DIFERENCIAR PROCESOS NEOPLASICOS

*Autor/a/s: Martin Andres M. Felicidad, Casado Hernandez M. Carmen, Boyero Sierra Consuelo, Rivera Reigada M. Luisa, Hernandez Cerceño M. Luisa*

*Centro de trabajo: Hospital Clinico Universitario de Salamanca. Localidad: Salamanca*

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

#### Introducción:

CA 72.4 es una mucina de elevado PM (>106 D) identificadas a través de dos anticuerpos monoclonales el CC49 y el B72.3. Actualmente es considerado un marcador útil en el seguimiento de pacientes con cáncer gástrico además se eleva en neoplasias de ovario y colorrectal y así como afecciones benignas relacionadas con el aparato digestivo y aparato reproductor femenino. Actualmente el punto de corte utilizado en nuestro laboratorio es 5.3 ng/ml establecido para una población sana.

#### Objetivo:

Este estudio se ha dedicado a establecer un punto de corte que nos permita discriminar entre procesos benignos y malignos, puesto que este marcador se eleva considerablemente en patologías no neoplásicas como pancreatitis, cirrosis hepática, enfermedad gastrointestinal benigna, afecciones ginecológicas e insuficiencia renal.

#### Material y Métodos:

En nuestro estudio hemos seleccionado 281 pacientes con cifras de CA 72.4 > 5.3 ng/ml, incluyendo tanto pacientes ambulatorios como pacientes hospitalizados en diferentes servicios del Hospital Clínico de Salamanca (Oncología, Medicina Interna, Hematología, Neurología, Nefrología, Urología, Reumatología, Digestivo y Ginecología).

Hemos clasificado los pacientes en dos grupos: pacientes con patología benigna y con neoplasias diagnosticadas. Para ello, hemos revisado la base de datos a través del programa informático que utilizamos en nuestro laboratorio.

El análisis de los datos se ha realizado utilizando el paquete estadístico SPSS 18.0.

#### Resultados:

Mediante el test de Kolmogorov-Smirnov se determinó que la muestra sigue una distribución no-normal ( $p < 0.000$ ) para ambas poblaciones, benigna y maligna obteniéndose una mediana de 15.6 ng/mL para la población benigna con un  $P_{5-95} = 7.1-53.8$  mientras que la población con neoplasias presentaba una mediana de 41.2 ng/mL

con  $P_{5-95} = 9.5-857$ .

Para poder establecer un punto de corte, que le de a este marcador, la especificidad suficiente, para diferenciar entre patología benigna y maligna, hemos utilizado una curva ROC, intentando obtener la mayor Sensibilidad (S) y la mayor Especificidad (E). Encontramos un valor de corte de 23.54 ng/ml para el CA 72.4 con una  $S=71.1\%$  y una  $E=74.4\%$ .

#### Conclusiones:

Hemos optado por establecer un límite de 23.54 ng/ml para el CA 72.4 que será de gran utilidad clínica a la hora de discriminar entre neoplasia y todas las patologías benignas que pueden incrementar los valores del marcador. Este valor de corte nos ofrece una especificidad suficientemente alta para evitar el gran número de falsos positivos que obligan a realizar costosas pruebas para su confirmación. El valor de

corte de 5.3 ng/ml, hasta ahora utilizado, sigue siendo el idóneo para diferenciar la población sana del resto de los pacientes con cualquier patología.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 028

#### PROTEINA LIGANTE DE POLISACARIDOS (LBP), MARCADOR UTIL EN INFECCIONES POR BACTERIAS GRAMNEGATIVAS.

*Autor/a/s: Ana María Sastre Garrote, María Mercedes Fernández Martínez, Demetria Hernández Benito, Carmen Casado Hernández, Elena Marcos Vadillo, María Luisa Hernández Cerceño, Juan Carlos Rodríguez Pérez*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA. Localidad: SALAMANCA*

*Correo electrónico del primer firmante: amita63@hotmail.es*

#### Introducción:

La sepsis por gramnegativas, es una causa significativa de morbilidad y mortalidad a pesar de los nuevos antibióticos.

En la membrana externa de todas las bacterias gramnegativas se encuentra el LPS o la endotoxina. Cuando la endotoxina invade el torrente circulatorio se une a varias proteínas (albumina, lipoproteínas, complemento, etc) destacando una especial afinidad por una proteína ligante específica (proteína de fase aguda de síntesis hepática) denominada proteína ligante de polisacáridos (LBP).

Los niveles de LBP no parecen aumentar en los pacientes con enfermedades inflamatorias que no sean debidas a gramnegativas. Hacemos una medición cuantitativa de LBP en plasma. Los niveles de LBP pueden indicar una exposición a bacterias o endotoxinas como en los casos de sepsis y servir de ayuda en el diagnóstico y pronóstico de estas enfermedades.

#### Objetivo:

Encontrar el punto de corte para el nivel de LBP que nos indique que es una enfermedad infecciosa causada por bacterias gramnegativas diferenciándolas de otras enfermedades inflamatorias.

#### Material y Métodos:

Se incluyen en el estudio 24 pacientes procedentes en su mayoría de servicios infecciosos y UCI del Hospital Universitario de Salamanca, diagnosticados de sépsis (los datos clínicos fueron obtenidos de la historia clínica del paciente), y 38 controles procedentes de pacientes que no presentaban procesos inflamatorios.

A todas las muestras se les determinó un panel de pruebas de bioquímica general, PCR y PCT, mediante autoanalizadores Cobas C 701 y 601 de Roche

La LBP se cuantificó por ensayo inmunométrico de quimioluminiscencia en IMMULITE 1000 de Siemens

Los datos han sido tratados mediante el programa estadístico SPSS 15.

#### Resultados:

Aplicamos el test de Shapiro-Wilk, resultando una población de distribución normal para esta prueba.

Aplicamos estadísticas resultando la siguiente tabla:

	N	$P_5$	MEDIANA LBP $\mu\text{g/ml}$	$P_{95}$
Pacientes	24	3,75	36,15	189
Controles	38	2,19	6,12	12,95

Hemos calculado una curva ROC tomando como positivos a todos los pacientes que presentan una respuesta inflamatoria sistémica y un cultivo positivo para bacterias gramnegativas. Para la concentración de LBP de 14.15  $\mu\text{g/ml}$  mostró una especificidad de 100% y una sensibilidad de un 87,5% y con una concentración de LBP de 10.47  $\mu\text{g/ml}$  obtenemos una especificidad de 96.8%, pero aumenta la sensibilidad a 91.7%.

#### Conclusiones:

En el intervalo de valores de 10.47 y 14.15  $\mu\text{g/ml}$  podemos situar nuestro punto de corte puesto que la sensibilidad y especificidad son lo suficientemente altas para discriminar las bacterias gramnegativas con mínima aparición de falsos negativos.

Nos inclinamos a tomar el punto más alto de 14.15  $\mu\text{g/ml}$  ya que disponemos de pruebas que nos indican inflamación sistémica (PCR, PCT) y nuestra intención es que la LBP nos diferencie los casos en que dicha respuesta inflamatoria sistémica sea debida a bacteriemia gramnegativas.

**EVALUACIÓN DEL ANALIZADOR AUTOMÁTICO DE SEDIMENTO URINARIO IQ200 IRIS CONFRONTADO CON LA MICROSCOPIA ÓPTICA.**

*Autor/a/s: Jesus Maria Díaz Campos; Antonio Gonzalez Pacheco; Francisca Berral Baena; Donoso Sayago, M<sup>o</sup> Jose*

*Centro de trabajo: H.U. Virgen Macarena. Localidad: Sevilla*

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

**Introducción:**

El sedimento urinario es el análisis biológico más solicitado por los clínicos, el número creciente de peticiones analíticas de sedimentos urinarios y el elevado grado de subjetividad y heterogeneidad en el criterio de los analistas ha conducido a la incorporación, cada vez más difundida, de sistemas automatizados.

Los procedimientos que se utilizan para la realización del análisis sistemático de la orina son el examen de las características físicas, análisis químico por medio de la tira reactiva y por último el estudio microscópico que debe realizarse cuando el análisis químico esté alterado.

En los últimos años se han producido sustanciosos avances en la interpretación y valoración patológica de los elementos observados, que revalorizan su práctica y reclaman de nuevo mayor atención.

**Objetivos:**

Evaluar las prestaciones del analizador automático en microscopía de análisis de imágenes IQ200 en nuestro medio de trabajo y compararlo con la observación del sedimento urinario con el microscopio óptico.

**Material y Métodos:**

El IRIS IQ 200 es un analizador de orina automatizado asociado a software de imágenes digitales. Se evaluó este analizador comparando los resultados con el examen microscópico óptico (Olympus BH-2) del sedimento urinario, y con la medición de tiras de orina en un analizador Cobas u411.

Recogimos 30 orinas patológicas escogidas al azar procedentes de pacientes de consultas de urgencias, hemos estratificado el recuento celular en intervalos: 0-5, 5-10, 16-30, 32-50 y >50 células/campo y se estudió la posible correlación entre ambos métodos.

**Resultados:**

Resultados del recuento por el analizador automático IQ200 mostraron correlaciones altamente significativas con las del estudio del sedimento urinario por microscopía óptica.

**Conclusiones:**

IRIS IQ 200 analizador puede jugar un papel útil en el examen y la medición automatizada de muestras de orina.

**“MEDICIÓN Y UTILIDAD CLÍNICA DE LOS NIVELES DE PROBNP EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS”.**

*Autor/a/s: Belén Vizcaíno Hernández, M<sup>a</sup> Pilar Bueno Requena, Raquel Izquierdo Soriano, María del Carmen Martínez Nalda, Esther Zarca Gómez.*

*Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Localidad: Valladolid*

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

**Introducción:**

El péptido natriurético tipo B N-terminal (BNP) es una neurohormona cardíaca liberada desde la membrana granular en los ventrículos cardíacos en respuesta al aumento tanto de la volemia como de la presión miocárdica y en diferentes estados de problemas fisiopatológicos cardíacos como es la insuficiencia cardíaca.

El Test Elecsys proBNP II STAT es un parámetro para el diagnóstico de pacientes bajo sospecha de sufrir una insuficiencia cardíaca congestiva y para la detección de insuficiencias cardíacas leves.

Asimismo, está indicado para estratificar el riesgo de pacientes con síndrome coronario agudo.

Dado que proBNP es liberado principalmente desde el ventrículo, es un predictor muy directo de la disfunción ventricular. proBNP es una prohormona que se separa a BNP (biológicamente activo) y fragmento N-terminal (NT-proBNP).

**Objetivo:**

Evaluar las principales causas de aumento de la proBNP.

**Material y Métodos:**

Se determinaron los niveles de proBNP en un estudio de 175 pacientes procedentes del Servicio de Urgencias utilizando el analizador Cobas 6000 Módulo 601 (Roche) mediante

electroquimioluminiscencia.

Para ello se recopilaron previamente sus historias clínicas con sus antecedentes y diagnósticos correspondientes.

Se considera como valores normales de la proBNP los valores comprendidos entre 1-125 pg/mL.

**Resultados:**

De los 175 pacientes todos ellos con proBNP elevada (94 mujeres y 81 hombres) hemos establecido en función del valor de proBNP obtenido, edad, sexo y patología (en este último caso solo para valores de proBNP patológicos). A su vez, se observa una mayor prevalencia de este incremento en población de más de 75 años (48,6%) y en mujeres (54,9%).

En cuanto a las patologías, la insuficiencia cardíaca representa (66,7%) de las causas atribuibles al incremento seguida de insuficiencia cardíaca congestiva acompañada de síndrome coronario agudo (19,6%) y otras causas (13,7%).

**Conclusión:**

El péptido natriurético NT-proBNP se presenta como una importante herramienta para el diagnóstico, pronóstico y monitoreo de la insuficiencia cardíaca, en la evaluación de la disnea aguda y en la mortalidad asociada al síndrome coronario agudo, por ello, es un marcador muy utilizado en nuestro Laboratorio de Urgencias.

Teniendo en cuenta el elevado coste de la prueba resulta de gran utilidad su adecuada demanda en casos estrictamente necesarios.

**EL OVARIO POLIQUÍSTICO: RESULTADOS Y RIESGO DE HIPERESTIMULACIÓN**

*Autor/a/s: Alonso Lorite Jessica, Martinez Fernandez Ana, Bou Sepulveda Carmen, Agudo Garcillan David,*

*Centro de trabajo: IVI MADRID. Localidad: ARAVACA*

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

**Introducción:**

El síndrome del ovario poliquístico (PCO), es un trastorno endocrino que se caracteriza por menstruaciones irregulares, alteración hormonal, obesidad y aparición de múltiples quistes en los ovarios. Afecta aproximadamente al 15% de la población femenina siendo una de las causas de infertilidad. El protocolo de estimulación es el citrato de clomifeno.

El síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO) es una respuesta hormonal exagerada para producir un mayor reclutamiento de folículos ováricos. Los síntomas son la distensión abdominal y náuseas, y, en los casos mas graves la hospitalización. Los niveles de estradiol sérico puede ser (> 2.500 pg/ml).

El objetivo del estudio ha sido el análisis de las pacientes con PCO comparando sus resultados de gestación e implantación con los obtenidos en las pacientes con etiología normal. Y además diferenciamos en ambos grupos aquellas pacientes con riesgo SHO para valorar si resulta mas efectivo vitrificar ovocitos o vitrificar embriones.

**Material y Métodos:**

Estudio retrospectivo realizado en IVI Madrid de 597 pacientes que se sometieron a tratamientos de reproducción asistida en 2012. Diferenciamos dos grupos: 139 con patología de ovario poliquísticos (PCO) y 458 con etiología normal. La media de ovocitos obtenidos en la punción fue similar.

Estudiamos las tasas de gestación e implantación y probabilidad de síndrome de hiperestimulación. También las tasas de supervivencia de ovocitos y embriones en aquellas con SHO.

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante  $\chi^2$

## Resultados:

	N	TG	TI	% SHO	T.SUP. OVOC	T.SUP. EMB.
PCO	139	61,5	36,0	23,1	82,0	96,8
NORMALES	458	59,9	37,4	6,4	75,8	96,19
p		NS	NS	<0,0001	NS	NS

## Conclusiones:

No se observan diferencias significativas en los resultados obtenidos en cuanto a tasas de gestación e implantación cuando comparamos las pacientes con ovarios poliútricos y sin patología. En cambio, se aprecia diferencia significativa en la probabilidad de hiperestimulación en el primer grupo de pacientes. Dentro de las pacientes que se han hiperestimulado se obtienen buenos resultados tanto si se congelan ovocitos como si se congelan embriones ya que la tasa de supervivencia de ambos es parecida.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 051

## GESTIÓN INTEGRAL DE NEVERAS (GIN)

Autor/a/s: Francisca Navajas Rojano, Olga Ortega Aíxas, Francisca Pariente Jiménez, Francisca Ortiz Requena, Nuria Barba Meseguer, Antoni Alsius serra

Centro de trabajo: Catlab. Localidad: Viladecavalls (Barcelona)

Correo electrónico del primer firmante: fnavajas@catlab.cat

## Introducción:

El laboratorio central de Catlab da cobertura a 850.000 habitantes, con 3300 peticiones/día y 7.5 millones de determinaciones/año. El área de Recepción de muestras cumplimentaba los registros de llegada y/o salida de mensajería y el control de neveras de forma manual.

## Objetivo:

Uno de los objetivos de calidad para el año 2012 fue la creación de un programa informático propio (GIN) para el control de mensajería, entrada y salida de neveras, rutas, tiempo de transporte y tiempo de apertura de neveras una vez han llegado a Catlab de forma automatizada.

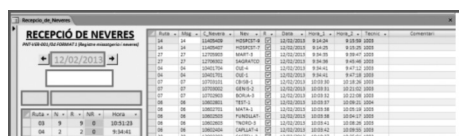
## Material y Métodos:

Se utilizó el programa Microsoft Office Access, se desarrolló un aplicativo que nos permite registrar la entrada y salida de neveras y la recepción de las mismas. El programa también nos permite generar etiquetas de código de barras para la identificación de mensajeros, técnicos y neveras.

Cada nevera va identificada con un código externo y uno interno. Dicho código contiene información referente a la ruta y la identificación de la nevera.

Cada mensajero al llegar a Recepción de muestras escanea su código de barras en el programa y lee los códigos de barras externos de las neveras, quedando registrado para cada nevera, su código, la ruta y la hora de llegada. En el caso de alguna incidencia también se puede registrar.

El técnico que recepciona cada nevera se identifica, y una vez vacía la nevera lee el código de barras interno, quedando registrada la hora de recepción y el código del técnico.



## Resultados:

Todos los registros están automatizados y podemos disponer de hasta nueve tipos de informes, dos de ellos se utilizan como indicadores de Calidad del área preanalítica.

Los distintos informes son: Cumplimiento de la hora de llegada de mensajería; Cumplimiento del tiempo de recepción de neveras; Cumplimiento del tiempo de recepción detallado; Total de neveras por ruta y mes; Gráfica de evolución mensual del nº de neveras; Neveras recepcionadas por horas; Gráfica del promedio mensual de neveras entradas, recepcionadas y pendientes por horas; Gráfica del promedio mensual de neveras entradas, recepcionadas y pendientes por horas (acumuladas) y Registro de salidas.

## Conclusiones:

El programa GIN nos ha permitido automatizar todos los registros referentes a mensajería, neveras y tiempos (tanto de llegada de neveras como de apertura), crear nuevos indicadores y tener elementos para una mejora continua en la fase preanalítica.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 056

## UTILIDAD DEL METODO DE PRECIPITACION CON ETILENGLICOL EN LAS DETERMINACIONES DE PROLACTINA FALSAMENTE ELEVADAS

Autor/a/s: PINA ECHEVARRIA MARIA JOSE, CIRIA TORCAL ANA MARIA, SANADO MORENO AINARA, FERNANDEZ PASCUAL PURIFICACION.

Centro de trabajo: H.U.MIGUEL SERVET.. Localidad: ZARAGOZA

Correo electrónico del primer firmante: mariajose20diego@yahoo.es

## Introducción:

La prolactina (PRL), hormona adenohipofisaria, cuya función principal es la lactancia y la síntesis de la progesterona en el ovario posee una secreción pulsátil, con variación diaria y circadiana. Aunque ésta no posee actividad biológica in vivo, in vitro, suele reaccionar con todos los inmunoensayos disponibles para la medición de PRL, lo que lleva al diagnóstico de «hiperprolactinemia aparente». Su identificación debe realizarse para evitar diagnósticos erróneos. La macroprolactinemia se suele dar en hiperprolactinemias moderadas ( $^3$  100 µg/L) como la forma molecular de mayor reactividad previa y durante el embarazo.

## Objetivo:

Demostrar la utilidad diagnóstica y eficiencia de estandarizar la precipitación con polietilenglicol (PEG) en pacientes con sospecha de macroprolactinemia.

## Material y Métodos:

Se estudiaron un total de 113 muestras recibidas en tres días aleatorios en la Sección de Bioquímica Clínica del H. U. Miguel Servet de Zaragoza. A cinco pacientes se les determinó PRL basal y también PRL a los diez minutos para demostrar la disminución del nivel de PRL tras diez minutos de reposo. La concentración de PRL sérica se determinó mediante inmunoanálisis de dos pasos con quimioluminiscencia de micropartículas en el DXI 800 de BECKMAN COULTER. Las muestras superiores a 30 ng/mL se trataron con PEG 6000 al 25%, según fórmula y método descrito por Rivas-Espinosa J., et al.

## Resultados:

De las 113 muestras analizadas se obtuvieron 22 macroprolactinemias (19,4%). Valores altos (macroprolactinemias) oscilaron de 30,67 a 128,1 ng/mL; media  $\pm$  D.S.: 56,29  $\pm$  26,74 ng/mL. Los valores de normalidad de la PRL fueron: 3,12-29,61 ng/mL.

## Conclusiones:

De la muestra de 113 pacientes a los que se determinó PRL sérica, se encontraron valores superiores a los valores de normalidad en 22 casos (19,4%). De estos 22 casos en 18 (81,8%) los valores de PRL activa se normalizaron (se obtuvieron valores en el rango de normalidad). El porcentaje de macroprolactinemia encontrado no se correlaciona con la cifra de PRL total correspondiente. Se evidencia la rentabilidad diagnóstica y eficiencia del uso de precipitación con PEG en el laboratorio clínico para la detección de macroprolactinemias.



**VALIDEZ DE LA OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO ÓPTICO DE CÉLULAS APARENTEMENTE NEOPLÁSICAS EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS**

Autor/a/s: (Pilar Guillen Esteban, Isabel Barcones Jimenez, Mirian Rebollo, M. Angeles Dueñas,

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO MOSTOLES. Localidad: MOSTOLES (MADRID)

Correo electrónico del primer firmante: brevas2@hotmail.com

**Introducción:**

El Laboratorio de Urgencias de Bioquímica (LUB), recibe diferentes tipos de líquidos biológicos cuyo estudio incluye la cuantificación de glucosa y proteínas totales, el recuento de hemáties y leucocitos (y su estudio diferencial) y el estudio de cristales en el caso de líquidos sinoviales. En ocasiones se puede observar la presencia de células atípicas, frecuentes mitosis, desproporción núcleo-citoplasma etc. En estos casos, normalmente se incluye un comentario en el informe analítico, sugiriendo que la muestra se remita al servicio de Anatomía Patológica (AP) del hospital, para su estudio mas específico.

**Objetivo:**

Evaluar mediante un estudio preliminar, la validez de los hallazgos en el LUB de células atípicas, en muestras de diferentes fluidos biológicos.

**Material y Métodos:**

En el año 2011 se recibieron un promedio de 60 muestras de líquidos biológicos al mes. El 40% fueron líquidos cefalorraquídeos, 20% pleurales, 21% ascíticos, 17% sinoviales y 2% de otras procedencias. Durante el periodo de Septiembre-Diciembre del 2011 se recogieron los datos de los líquidos biológicos que se recibían en el LUB, y que simultáneamente eran procesadas en AP. Un total de 88 muestras, 24 líquidos ascíticos, 24 cefalorraquídeos, 36 pleurales y 1 líquido pericárdico. El informe de AP para estas muestras se considero el "gold estándar". Tres muestras tuvieron un informe AP no valorable, por lo que se han excluido del estudio

**Resultados:**

Casos Positivos: Aquellos en los que el informe AP fue positivo para células neoplásicas o sospechosas de serlo. Fueron el 14% de los líquidos del estudio.

Verdaderos Positivos: Aquellos en que ambos informes coincidían en la presencia de células neoplásicas o sospechosas de serlo 58% de las muestras positivas.

Falsos Negativos: aquellos casos en los que el LUB informa de la presencia de células atípicas, y en AP se informa como células inflamatorias, reactivas etc., pero no como células neoplásicas fueron el 4%.

Otros resultados se muestran en esta tabla:

	Valor estimado	Intervalo de confianza la 95%
Sensibilidad	58 %	(0.3-0.86)
Especificidad	96%	(0.91-1)
Cociente de probabilidad+(CP+)	14	(4.25-47)
Cociente de probabilidad -(CP-)	0.43	(0.22-0.85)

**Conclusiones:**

Este es un estudio preliminar cuyas limitaciones son fundamentalmente el tamaño muestral y no haber objetivado el grado de acuerdo entre observadores.

El resultado CP + > 10 indica que la prueba es "excelente" como marcador positivo de enfermedad. Un resultado positivo en la prueba (Observación al microscopio de células atípicas en el LUB), aumenta la forma importante de probabilidad

Post prueba de enfermedad. Sin embargo un resultado negativo, no modifica apenas la probabilidad Pre prueba.

Sugerimos que el LUB debe informar siempre que tenga un hallazgo de este tipo de células, ya que, o bien por problemas de muestra, o bien por ausencia de sospecha clínica no todas las muestras se procesan en AP. En estos casos, el dato del LUB es especialmente importante.

**INCIDENCIA DE LAS GAMMAPATÍAS MONOCLONALES EN EL AREA SANITARIA VII (MIERES, ASTURIAS)**

Autor/a/s: FRANCISCA BRAVO CABELLO, TERESA GONZÁLEZ GARCÍA, VANESSA RODRÍGUEZ GARCÍA, M<sup>a</sup> ROSARIO FERNÁNDEZ CAMPOMANES, ROSARIO LÓPEZ SANTOS, ANTONIO FREIRE CORBACHO

Centro de trabajo: HOSPITAL ALVAREZ-BUYLLA. Localidad: MIERES, ASTURIAS

Correo electrónico del primer firmante: franciscabravoc@gmail.com

**Introducción:**

Las gammapatías monoclonales (GM) son un grupo de trastornos caracterizados por la proliferación clonal de células plasmáticas que producen una inmunoglobulina monoclonal o fracciones de ella que se pueden detectar en sangre y orina mediante la presencia de una banda anormal (pico monoclonal) en el proteinograma. Las GM incluyen un amplio espectro de patologías que abarcan desde la gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI) de carácter benigno, caracterizado por la presencia de proteína monoclonal en sangre u orina, sin otras alteraciones analíticas o clínicas, hasta otras como el mieloma múltiple (MM), amiloidosis o leucemia de células plasmáticas que pueden representar un grave riesgo para la vida del paciente. Cerca de un 25 % de las GMSI evolucionan a MM, por lo que la detección de una proteína monoclonal en un paciente es indicativo para el clínico de vigilancia periódica pudiéndose detectar de forma precoz una evolución maligna disminuyendo notablemente el riesgo para la vida del paciente. Factores de riesgo de desarrollo de GM son la edad, genética, exposición a productos tóxicos (herbicidas, industria química...). La incidencia de las GM en la población del área determinará la utilidad de la inclusión del proteinograma sérico como prueba de cribado, en el perfil analítico rutinario en el rango de edad de riesgo.

**Objetivo:**

Establecer la incidencia de gammapatías monoclonales en el área sanitaria VII-Mieres (Asturias) y analizar la prevalencia por sexo y edad así como determinar los tipos mayoritarios de proteína monoclonal.

**Material y Métodos:**

Se empleó una población de 9244 pacientes de entre 25-100 años en los que se realizó proteinograma sérico en el periodo 2006-2012 mediante electroforesis capilar (Capillarys, Sebia Hispania). La caracterización de los picos monoclonales obtenidos se efectuó mediante inmunosubstracción (Capillarys, Sebia Hispania) y confirmada por inmunofijación en casos dudosos (Hydrasys, Sebia Hispania). Para el tratamiento de datos se utilizó el software Microsoft Excel 2007.

**Resultados:**

La incidencia global en la muestra de pacientes estudiada durante 6 años ha sido del 4.5 % (418 pacientes), siendo la tasa de incidencia media en este periodo de 8.03 casos / 10000 habitantes / año. El estudio de prevalencia reveló una mayor incidencia en el sexo femenino (58.3 %) y en el tramo de edad comprendido entre los 50 y 80 años (57.3 %). La caracterización de las proteínas monoclonales en estos pacientes reveló mayor predominio de las inmunoglobulinas tipo IgG-kappa e IgG-lambda (42 % y 26 % respectivamente).

**Conclusiones:**

Las gammapatías monoclonales tienen una incidencia lo suficientemente elevada en esta área sanitaria, como para justificar la realización del proteinograma sérico como prueba de cribado de gammapatías monoclonales en analíticas de control rutinario de pacientes a partir de 50 años.

**DETECCIÓN DE POSIBLES FALSAS HEMATURIAS POR OXALATOS O LEVADURAS EN UN AUTOANALIZADOR DE ORINAS UF-1000I**

Autor/a/s: Ràfols Ferrer, Roser. Roviroso Reverte, Mònica. Ribera Martín, Eva. Mañas Marcuello, Ana. Ventura Pedret, Salvador. Bermúdez Escribano, José María.

Centro de trabajo: Laboratori Clínic Just Oliveras. Localidad: Hospitalet de Llobregat

Correo electrónico del primer firmante: catassus@gmail.com



## Introducción y objetivos:

El UF-1000i es un analizador basado en la citometría de flujo, que clasifica los elementos formes de la orina y realiza un recuento cuantitativo de los mismos.

Los hematíes se distribuyen en la zona de intensidad de fluorescencia baja del diagrama de dispersión debido a que solo se tiñe su membrana celular.

Los cristales y las levaduras no se tiñen o lo hacen débilmente. Debido a su tamaño, su localización en el diagrama puede ser muy parecida a la de los hematíes.

El objetivo de este estudio es analizar las alarmas aparecidas en los hematíes por posible confusión con levaduras y/o cristales para ver como influyen estas interferencias en la cuantificación de los hematíes por el UF-1000i.

## Material y Métodos:

Se han analizado al microscopio 501 muestras de orina en las que ha salido la alarma de posible interferencia en el recuento de hematíes. Todas las muestras se han obtenido mediante el sistema de vacío en tubos de 10 ml y han sido procesadas dentro de las cinco horas posteriores a su obtención en un analizador de orinas UF-1000i. Al mismo tiempo se han contrastado los resultados con la observación al microscopio de todas estas orinas.

## Resultados:

En este estudio se han analizado por el UF-1000i un total de 28371 orinas. En 501 orinas (1,77%) ha aparecido alarma en el recuento de hematíes y se han investigado al microscopio. De estas 501 orinas, en 182 casos (36,3%) se han detectado cristales o levaduras. De estos 182 casos, en 129 (70,8%) se han detectado cristales de oxalato cálcico, en 30 casos (16,5%) se han detectado levaduras y en 23 casos (12,6%) se han detectado otros tipos de cristales.

En 2 casos, el UF-1000i informaba de franca hematuria mientras que investigadas estas orinas al microscopio no se observaban hematíes y sí abundantes cristales de oxalato cálcico.

En otro caso, el UF-1000i informaba también de franca hematuria mientras que observada la orina al microscopio no se observaban hematíes y sí abundantes levaduras.

De las 501 orinas analizadas, en el 84,69 % de los casos en que el UF-1000i detectó más de 100 cristales/uL, en el microscopio también se observaron cristales de oxalato cálcico.

De las 501 orinas analizadas, en el 57,69 % de los casos en que el UF-1000i detectó más de 600 levaduras/uL, en el microscopio también se observaron levaduras.

## Conclusiones:

Siempre que el UF-1000i detecte hematuria y salga la señal de alarma en la cuantificación de los hematíes hay que investigar dicha muestra de orina al microscopio para descartar una falsa hematuria por cristales de oxalato cálcico o bien presencia de levaduras o de otros cristales.

Hay que revisar al microscopio todas las orinas en las que el UF-1000i detecte más de 100 cristales/uL o más de 600 levaduras/uL, aunque no salga alarma en los hematíes, para descartar dicha presencia.

circadiano de secreción de cortisol. Esto permite diferenciar más exactamente entre individuos sanos y pacientes con el síndrome de Cushing.

La determinación del CLU requiere un paso previo de extracción y resuspensión que introduce posibles imprecisiones por tratarse de fases manuales.

## Objetivo:

Estudiar la correlación que existe entre el cortisol total y el CLU en orina de 24 horas para valorar la posibilidad de obviar la fase de extracción previa.

## Material y Métodos:

Preparación de muestras de orina: se mezclan 0,5 ml de orina y 2,5 ml de Diclorometano; agitar en vortex y dejar reposar 10'. Recoger 2 ml del infranadante, que contiene el CLU. Dejar evaporar totalmente en corriente de nitrógeno y añadir 0.4 ml de Diluyente Universal. Agitar bien y analizar.

El cortisol se determina mediante inmunoanálisis electroquimioluminiscente competitivo en una plataforma modular E-170 de Roche Diagnostics®.

Se procesan en paralelo 51 muestras de orina con/sin pretratamiento, se tabulan y estudian los resultados con los programas estadísticos MedCalc y SPSS 15.0. Se estudia distribución mediante test de Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors. Al ser no paramétricas, analizamos su correlación con el coeficiente de Spearman y calculamos la recta de regresión de Passing-Bablok. Valoramos sus diferencias mediante el método gráfico de Bland-Altman y el grado de concordancia mediante el Coeficiente de Lin.

## Resultados:

Las variables estudiadas (Cortisol total urinario y Cortisol libre urinario) presentan una distribución no paramétrica ( $p < 0.0001$ ). En el estudio de correlación encontramos un coeficiente Rho de Spearman de 0.9, con un IC95% (0.830-0.942).

En el estudio de regresión de Passing y Bablock, obtenemos una ordenada en el origen de -10,8743 IC95% (-23,4470 a -4,0383) y una pendiente de 1,5560, IC95% (1,3095 a 1,9472), lo que manifiesta un error constante y proporcional, presentando en el test de Cusum una significativa desviación de la linealidad ( $P < 0.05$ ).

En el estudio gráfico de Bland-Altman observamos un marcado sesgo proporcional entre ambos métodos.

En lo que respecta a la concordancia, encontramos un Coeficiente de Lin de 0.9253, con un IC95% (0,8877 a 0,9506), que según la escala de McBride correspondería a un grado de acuerdo moderado entre ambas técnicas.

## Conclusiones:

- La correlación entre ambas técnicas es elevada y significativa ( $p < 0.001$ ), pero el estudio de regresión nos indica que los métodos no son intercambiables.

- No se puede utilizar la recta de regresión debido a su falta de linealidad y, adicionalmente, la concordancia entre los dos métodos es sólo moderada, por lo que no clasifican de igual manera a los pacientes.

- Basándonos en las **Conclusiones:** anteriores, consideramos que no se puede obviar la fase de extracción en la determinación de Cortisol libre urinario.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 087

### CORRELACIÓN ENTRE LA DETERMINACIÓN DEL CORTISOL LIBRE URINARIO SIN EXTRACCIÓN Y CORTISOL LIBRE URINARIO TRAS EXTRACCIÓN EN ORINA DE 24 HORAS

Autor/a/s: Ríos Quesada, Catalina; Romo Pecino, Carmen; Cuadros Caballero, Esther; Gómez Morillo, María; Sáez-Benito Godino, Ana.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Puerta del Mar. Localidad: Cádiz

Correo electrónico del primer firmante: catirios54@hotmail.com

## Introducción:

El cortisol es el glucocorticoide más importante producido por la glándula suprarrenal y cumple un papel esencial en el mantenimiento de numerosas funciones del organismo. Su determinación sirve para el diagnóstico y control del tratamiento de trastornos funcionales de las glándulas suprarrenales.

El cortisol excretado a la orina sin sufrir alteraciones se denomina Cortisol Libre Urinario (CLU). La determinación de cortisol en la orina de 24 horas es el método óptimo para la detección del Síndrome de Cushing, ya que no está sujeta al ritmo

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 094

### ESTUDIO COMPARATIVO DE LA DETERMINACIÓN DE PERFIL DE URGENCIAS (GLUCOSA, UREA, CREATININA, SODIO Y POTASIO) EN TUBO CON HEPARINA DE LITIO Y TUBO CON EDTA 3 K.

Autor/a/s: COLMENERO MARTOS, ANA MARÍA; OCAÑA OCAÑA, MERCEDES Y VALDIVIESO ROLDÁN, FRANCISCO EMILIANO.

Centro de trabajo: HOSPITAL MÉDICO-QUIRÚRGICO. Localidad: JAÉN

Correo electrónico del primer firmante: ana4761@andaluciajunta.es

## Resumen:

En el laboratorio de urgencias el 85% de las peticiones solicitan el perfil de urgencias (glucosa, urea, creatinina, sodio y potasio) y hemograma, además de otros parámetros.

Nos mandan sangre en tubo con heparina de litio para bioquímica y sangre en tubo con EDTA 3 K para hemograma.

En muchas ocasiones y atendiendo a diversas circunstancias, como puede ser extracción dificultosa, no envían muestra suficiente, por lo que la determinación de este perfil de urgencias en sangre con EDTA 3 K sería de gran utilidad.

## Objetivo:

Evaluar los resultados obtenidos aplicando el mismo método de análisis a muestra de sangre con diferentes anticoagulantes (heparina de litio y EDTA 3 K) y ver si son intercambiables entre si.

## Material y Métodos:

Analizamos 58 muestras de sangre en tubo con heparina de litio y 58 en tubo con EDTA 3 K, obtenidas de 58 pacientes del Servicio de Urgencias, Consultas externas y hospitalizados. La elección de las mismas ha sido arbitraria y en días diferentes.

El plasma lo obtenemos por centrifugación a 4000 rpm durante 3' para ambas muestras.

Usamos el sistema integrado de química clínica Dimension EXL (Siemens). Analizador que integra la química y el inmunoensayo. Con tecnologías probadas y de confianza: Quimioluminiscencia, fotometría, prueba de electrolitos y automatización.

## Resultados:

A través del test estadístico t-Student de muestras apareadas, estudiamos las diferencias entre las medias de las mismas variables en los dos tubos: heparina de litio y EDTA 3 K.

Se comprueba que existen diferencias estadísticamente significativas en glucosa, urea y sodio. Una gran diferencia en el potasio y no existen diferencias significativas en la creatinina.

En la siguiente tabla se puede comprobar cuales son las medias de cada una de las variables según el tubo utilizado:

Estadísticos descriptivos						
		N	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo
HEPARINA DE LITIO	GLUCOSA	58	114,76	37,188	62	276
	UREA	58	42,71	27,809	12	142
	CREATININA	58	,986	,4015	,4	2,4
	SODIO	58	138,21	4,708	116	150
	POTASIO	58	4,140	,5374	2,7	5,5
EDTA K3	GLUCOSA	58	106,29	36,507	56	261
	UREA	58	43,38	27,817	11	146
	CREATININA	58	,988	,4206	,4	2,4
	SODIO	58	131,57	4,769	112	146
	POTASIO	58	32,898	4,7000	20,9	45,8

## Conclusiones:

Al existir diferencias significativas en glucosa, urea y sodio, así como una gran diferencia en el potasio, no se puede usar el tubo con EDTA 3 K para estos parámetros. Sí para la creatinina.

Ambos anticoagulantes no son intercambiables para el perfil de urgencias (glucosa, urea, creatinina, sodio y potasio).

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 096**

## ¿CUAL ES EL MEJOR INDICADOR PARA LA CRIPTOCOCOSIS?

*Autor/a/s: Paz Paz, Maria Angeles; Cruz Lopez, Josefa; Figarola Cervera, Roser; Arias Recasens, Angels.*

*Centro de trabajo: LABORATORI ICS CAMP DE TARRAGONA. Localidad: TARRAGONA*

*Correo electrónico del primer firmante: mapazpaz@hotmail.es*

## Introducción:

La Criptococosis es una micosis sistémica, generalmente, oportunista. Está producida por el *Cryptococcus neoformans* la mayoría de veces, aunque también puede ser producida por el *Cryptococcus gattii*. El *Criptococo* es un tipo de género

fungi que crece en medio de cultivo habituales y que presenta la forma perfecta o teleomorfa (sexual) con morfología filamentosa que recibe el nombre de *Filobasidiella* y la forma imperfecta (asexuada) anamorfa que es la que crece en forma de levadura, habitualmente. El nombre *Cryptococcus* se usa para referirse a las formas imperfectas del hongo. Normalmente, la criptococosis, afecta a pacientes inmunodeprimidos como en tratamientos a largo plazo con corticoides, VIH, trasplantes y pacientes con neoplasias, y una de las enfermedades que puede producir es la meningoencefalitis. Se necesita un alto grado de sospecha ya que inicio generalmente es subagudo y los síntomas progresan de manera gradual con el tiempo. Los tres síntomas más frecuentes son fiebre, cefalea y malestar general. La mortalidad actualmente es del 6%.

## Objetivo:

Conocer cuál es el mejor parámetro bioquímico y/o citológico en LCR para el diagnóstico presuntivo de la criptococosis.

## Material y Métodos:

Hemos realizado un estudio retrospectivo del año 2012 en el cual hemos recibido un total de 4 Líquidos Cefalorraquídeos (LCR) a los que se le solicitó un estudio de criptococosis y que hubo confirmación microbiológica por antígeno y/o cultivo. En nuestro laboratorio, a los LCR se les realiza un análisis bioquímico en el cual se analiza las siguientes determinaciones: Glucosa, Proteínas, Adenosina-desaminasa (ADA) y el lactato-deshidro-genasa (LDH) en el autoanalizador ADVIA-1200 (Siemens). También se les realiza un análisis citológico en el cual se analiza los eritrocitos, leucocitos, los leucocitos mononucleares y los leucocitos polinucleares bien en el SYSMEX XT-4000i (Roche) y/o recuento en cámara Fuchs-Rosenthal.

## Resultados:

En estos 4 LCR en los que se obtuvo el crecimiento de *cryptococo*, el recuento leucocitario era normal (<5 células leucocitarias). De estos 4, en 2 las proteínas y la glucosa estaban alteradas en aumento mientras que el ADA estuvo aumentado en los 4.

## Conclusiones:

En nuestra pequeña serie de casos el único parámetro que ha corroborado siempre el diagnóstico es el ADA superior a 4/5 UL. El resto de parámetros citológicos y/o bioquímicos presentan una mayor variabilidad, por lo cual podemos concluir que la determinación del ADA es una gran ayuda para el diagnóstico presuntivo de criptococosis.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 098**

## ESTUDIO DE UNA INTOXICACIÓN AGUDA ACCIDENTAL POR ARSÉNICO

*Autor/a/s: María del Carmen de la Fuente Huerca, María Estrella Madrid Martín de Lucía, María de los Ángeles Balmaseda Serrano, Antonia María García Palomo.*

*Centro de trabajo: Servicio de Análisis Clínicos. Hospital General Universitario de Ciudad Real. Localidad: Ciudad Real*

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

## Introducción:

Un paciente de 26 años entra por urgencias de nuestro hospital con una intoxicación aguda accidental por arsenito sódico, debido a una ingesta de un plaguicida utilizado en el cultivo de la vid. La vía oral es la intoxicación mas frecuente, ya que se trata de un compuesto inodoro e insípido. La toxicidad del arsénico depende de su estado de oxidación y solubilidad. Su mecanismo de acción principal es la unión a grupos sulfhidrido, inhibiendo la acción de enzimas que intervienen en la fosforilación oxidativa celular. Como consecuencia se produce un daño endotelial difuso, vasodilatación, trasudación masiva y congestión de todos los órganos. Posteriormente, el arsénico sufre mutilación hepática a compuestos menos tóxicos y es excretado, fundamentalmente, por la orina y, en pequeña proporción, por bilis, heces, pelo, piel y leche.

El valor límite biológico según el Instituto Nacional e Higiene en el Trabajo (VLBI-INSHT) al final de la semana laboral de arsénico es de 35 mcg/L.

## Objetivo:

Analizar y observar la evolución del arsénico excretado en orina.

## Material y Métodos:

Las pruebas realizadas se realizaron en el laboratorio de urgencias del hospital universitario de Ciudad Real y en un laboratorio externo (Referente Laboratory) donde se realizó la prueba del arsénico, determinación realizada por técnica ICP-MS (Determina Arsénico Total: libre+quelado).

## Resultados:

En la analítica únicamente se observó elevadas la CK, y CK-MB mientras que el hemograma, glucosa, urea, creatinina, sodio, potasio, bilirrubina, amilasa, gasometría venosa y coagulación no muestran alteraciones significativas.

El arsénico en orina y sangre:

	12/01/2013	15/01/2013	24/01/2013
Orina	30462 mcg/L	4243 mcg/L	1690 mcg/L
Sangre	219 mcg/L	-	-

Los niveles en sangre solo se realizaron en la primera analítica ya que el compuesto desaparece rápidamente por absorción celular en las primeras 24-48h de la ingesta.

## Conclusiones:

Su clínica no llegó ser significativa gracias a la rápida intervención del paciente tras provocarse el vómito y la actuación médica con la administración de carbón activo y el posterior tratamiento con dimercaprol (BAL o British Anti-Lewisite) tratamiento según las indicaciones del Instituto Nacional de Toxicología (Pauta: desde el 3º día 2.5 mg/Kg/12hn hasta 10 días). El paciente evoluciona sin complicaciones eliminando gradualmente el arsénico

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 112

## ESTABILIDAD DE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE PROLACTINA A LAS 72 H Y A LAS 96 H DE LA EXTRACCIÓN

Autor/a/s: Cardona Farriol, Jèssica; Ramos Félez, Ester; López García, M<sup>a</sup> del Consuelo; Pérez Nieves, Elisabet; Morales Indiano, Marc; Granada Ybern, M<sup>a</sup> Luisa; Pastor Ferrer, M<sup>a</sup> Cruz.

Centro de trabajo: Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Localidad: Badalona

Correo electrónico del primer firmante: jessicafarriol@hotmail.com

## Introducción:

- La necesidad de conocer la estabilidad de las magnitudes bioquímicas surge desde el momento en que las muestras no se procesan inmediatamente después de su extracción, ya que es una práctica diaria en el laboratorio hacer repeticiones o ampliaciones de pruebas y en caso extremo por avería técnica.
- La estabilidad de una magnitud se puede definir como el periodo de tiempo en el que la magnitud mantiene su valor dentro de unos límites establecidos, conservando la muestra en la que se realiza la medición en unas condiciones especificadas.
- Según la Comisión de Calidad Analítico de la Sociedad Española de Químico Clínica la estabilidad se define como 1,65 por el coeficiente de variación interensayo.

## Objetivo:

- Evaluar la estabilidad de la concentración sérica de prolactina en tubos primarios para suero con gel separador en 72 h y 96 h conservando las muestras a 4°C tapadas y el tiempo máximo para una repetición.

## SUJETOS Y MÉTODO:

Se han determinado las concentraciones de prolactina en 12 muestras el mismo día de la extracción, a las 72 h y a las 96 h, por el analizador Modular Analytics E170 de Roche®. El método del analizador es un inmunoensayo de electroquimioluminiscencia tipo sandwich.

## Resultados:

El coeficiente de variación analítico interensayo para la prolactina en nuestro laboratorio es de 3,72%.

El límite de estabilidad según la SEQC es igual a  $3,72 \times 1,65 = 6,14$ .

Un 25% de las muestras procesadas a las 72 h supera el Cva obtenido. En las muestras procesadas a las 96 h el 100% supera este Cva.

MUESTRA	PRL	72 h	96 h	Cambio % PROL 72 h	Cambio % PROL 96 h	Cva PROL
1	62,9	61,8	59,17	1,780	6,303	6,14
2	14,3	13,7	13,47	4,380	6,161	6,14
3	7,2	7	6,7	2,857	7,462	6,14
4	0,9	0,9	0,827	0,000	8,827	6,14
5	8	7,8	7,26	2,564	10,192	6,14
6	6,4	6,2	5,97	3,226	7,202	6,14
7	13,9	13,7	12,51	1,460	11,111	6,14
8	26,1	25,3	23,87	3,162	9,342	6,14
9	7	6,59	5,3	6,222	32,075	6,14
10	1,4	1,32	1,02	6,061	37,254	6,14
11	5,2	4,85	3,9	7,216	33,333	6,14
12	15,8	14,75	12,5	7,119	26,400	6,14

## Conclusión:

Los resultados obtenidos nos indican que a las 72 h de la extracción, se observa una pérdida de estabilidad solamente en un 25% de las muestras y a las 96 h en todos los casos.

El tiempo máximo para una repetición o ampliación para la prolactina es de 48 h, en esta situación se recomienda una alícuota de la muestra en otro tubo tapado.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 118

## TEST DEL SUDOR COMO DIAGNÓSTICO DE LA FIBROSIS QUÍSTICA.

Autor/a/s: Ester Ramos Felez, Maria del Consuelo López García, Jessica Cardona Farriol, Elisabet Pérez Nieves, Eva Maria Fuster López, Ramón Vives Bacardit, Ingrid Vilajuana, Ester Fuentes Castilla, Marc Morales Indiano, Jaume Barallat Martínez de Osaba, Mari Cruz Pastor Ferrer.

Centro de trabajo: Hospital Germans Trias i Pujol. Localidad: Badalona

Correo electrónico del primer firmante: esterfelez021170@yahoo.es

## Introducción:

La fibrosis quística (FQ) es una patología causada por la mutación del gen de la membrana conductora reguladora de la FQ, provocando alteración en el transporte del cloro y sodio en las células secretoras epiteliales. La incidencia mundial estimada de FQ es de: 1:2500/4000 recién nacidos vivos. Esta alteración de iones da lugar a un fallo multisistémico de varios órganos y sistemas, que principalmente son el tracto respiratorio y el sistema digestivo. Es importante el diagnóstico temprano (programas de pesquisa neonatal), para permitir que el niño y su familia reciban las acciones médicas necesarias cuando todavía no ha producido daño o lesión irreversibles.

Para la realización del diagnóstico de dicha patología utilizaremos la prueba del test del sudor.

## Objetivos:

Realizar un análisis descriptivo de los resultados de los test de cribado del test del sudor en la población estudiada en el Hospital Germans Trias i Pujol en el periodo comprendido entre 2007 y 2012.

## Material y Métodos:

Hemos estudiado una población de 453 niños, con edades comprendidas entre 0 años hasta 18 años.

El test del sudor se ha realizado por iontoforesis y consta de tres fases:

1ª Estimulación del sudor por iontoforesis ("ionto" = ión, "phoresis" = traslado, consiste en introducir iones de sustancias activas a través de la piel aplicando una corriente continua de baja intensidad a los tejidos a partir de la colocación de 2 electrodos uno rojo y otro negro) con pilocarpina (QPIT). La estimulación se consigue por iontoforesis con pilocarpina, aplicando una corriente de 1,5 mA durante 5 minutos con control automático tanto de la intensidad como de la duración del proceso.

2ª Recogida del sudor. Actualmente el método más utilizado para la recogida es el Macroduct (Wescor), que consiste en un disco de plástico ligeramente cóncavo, con un agujero en el centro, el cual está conectado a un tubo de plástico de pequeño calibre que se enrosca en espiral, el cual lleva una pequeña cantidad de colorante de azul hidrosoluble en la zona cóncava del disco, que nos permitirá apreciar la cantidad de sudor que va recogiendo. El tiempo de recogida no debe superar los 30 minutos, y se necesita un mínimo de 15 µl. Los resultados positivos serán confirmados con 2 resultados.

3ª Análisis cuantitativo de la concentración de cloruros o cloruros y sodio e interpretación bioquímica de los resultados. Se realizara con el analizador de conductividad Sweat-Chek de Wescor, que consta de un visor digital donde aparecen los resultados, pilotos indicadores (wait, Ready, power), y un receptor con una entrada y una salida de la célula de conductividad (derecha entrada del sudor e izquierda salida de líquidos que introducimos por el primer conducto). Pondremos en marcha el analizador, y conectaremos al conducto izquierdo (salida) de la célula de conductividad un capilar de plástico, y en el derecho conectaremos el capilar con el sudor recolectado que estará sujeto a una jeringa con la que introduciremos el sudor, esperaremos 10-15 segundos y observaremos el valor que nos aparece en el visor digital, siendo ese el valor de la muestra.

Los resultados <70 son considerados negativos, los comprendidos entre 70 a 95 se clasifican como borderline y los >95 son positivos.

#### Resultados:

Los resultados obtenidos de esta población de 453 niños estudiados son los siguientes:

<70 negativo: 449 pacientes, lo que equivale a un 99%.

70-95 borderline: 4 pacientes, lo que equivale a 1%.

>95 positivo: ningún paciente.

#### Conclusión:

Aunque este método es muy útil para el cribado de FQ, en la población estudiada en nuestra área no se ha obtenido ningún resultado positivo en el periodo estudiado. Aún así los programas de cribado continúan siendo importantes por su relativa sencillez de ejecución frente a los potenciales beneficios obtenibles.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 120

### DETECCIÓN DE SANGRE OCULTA EN HECES POR MÉTODO INMUNOLÓGICO CUANTITATIVO

Autor/a/s: Rodríguez Perez Josefina, Rovirosa Reverte Mònica, Herrero Otero Sonia, Rafols Ferrer Roser, Grenzner Martinell Elisabet.

Centro de trabajo: laboratori clinic territorial metropolitana sud. Localidad: HOSPITAL DEL LLOBREGAT

Correo electrónico del primer firmante: josefinarodriguezperez@hotmail.com

#### Resumen:

Detección de sangre oculta en heces por método inmunológico cuantitativo

#### Introducción:

Numerosas alteraciones gastrointestinales de gravedad diversa pueden cursar con pérdidas de sangre más o menos abundantes. En nuestro medio, la principal indicación de la detección de sangre oculta en heces es el cribado de cáncer colorrectal.

Actualmente, el método más ampliamente aceptado es el inmunológico, que supera en sensibilidad y especificidad a los anteriores (guayaco, bencidina) ya que detecta hemoglobina humana. El punto de corte establecido por el Programa de Cribado de Cáncer colorrectal es de 100 ng/mL.

#### Objetivos:

Conocer los valores cuantitativos de hemoglobina en heces y establecer posteriormente su relación con la orientación clínica.

#### Material y Métodos:

Estudio observacional retrospectivo de las determinaciones de sangre oculta en heces solicitadas en Atención Primaria durante el periodo septiembre-octubre 2012.

El método empleado es un inmunoensayo que utiliza la fijación de partículas de látex (OC-Sensor®) y el resultado se obtiene en nanogramos de hemoglobina por mililitro de solución.

#### Resultados:

Durante el período estudiado se procesaron 1779 muestras correspondientes a 1568 pacientes de todas las edades. Los valores obtenidos fueron inferiores a 39 ng/mL en 1465 (82,39%) ocasiones, en 54 (3%) entre 40 y 74, en 22 (1,23%) entre 75 y 100 y en 238 (13,38%) fue superior a 100 ng/mL.

Remitieron más de una muestra 211 pacientes, obteniéndose resultados discordantes en 34 de ellos cuyo motivo de solicitud fue anemia en 10 casos, enfermedades digestivas en 6 casos y rectorragias en 4 casos.

#### Conclusiones:

Entre las muestras con valores iguales o superiores a 40 ng/mL, el mayor número corresponde a resultados superiores a 100 ng/mL.

Es importante el resultado cuantitativo para poder valorar resultados inferiores en función del contexto clínico.

A pesar de que en nuestro medio la indicación principal de investigación de sangre en heces es el cribado de cáncer colorrectal, el motivo de solicitud es con frecuencia la presencia de anemia o enfermedades digestivas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 122

### ESTUDIO COMPARATIVO DE DOS MÉTODOS BIOQUÍMICOS EN LA DETERMINACIÓN DE K Y NA.

Autor/a/s: Paz Paz, Maria Angeles; Zamora Fernández, Jose Carlos; Parejo Vico, Susana; Cañellas Nieto, Cristina; Sancho Vilellas, Maria Jesus

Centro de trabajo: LABORATORI ICS CAMP DE TARRAGONA. Localidad: TARRAGONA

Correo electrónico del primer firmante: mapazpaz@hotmail.es

#### Introducción:

El Na es el ión positivo que se encuentra principalmente en los fluidos extracelulares del organismo del organismo. Conocer el contenido de Na permite evaluar la función de los riñones, de diferentes hormonas y situaciones de regulación de líquidos en el cuerpo humano.

El K es el ión positivo que se encuentra principalmente dentro de las células del organismo. Es necesario para la transmisión de estímulos nerviosos y musculares, para el transporte de nutrientes al interior de las células y la salida de productos de degradación de las mismas.

#### Objetivos:

El objetivo es comparar los resultados obtenidos para ambos auto-analizadores y ver si los valores son intercambiables entre sí.

#### Material y Métodos:

Se procesan 100 muestras de pacientes de urgencias, teniendo en cuenta que el gasómetro Rapid Lab 1200 mide en sangre total (arterial o venosa) y el Advia 1200 en suero o plasma.

En el área de urgencias del "Laboratori Clínic Camp de Tarragona i Terres de l'Ebre", existe la opción de medir el Na y el K por dos métodos diferentes:

MATERIAL	MÉTODOS
Gasómetro RAPID LAB 1200	Potenciometría Directa
ADVIA 1200	Potenciometría Indirecta

#### Resultados:

Contando con un margen de error de +/- 2 unidades para el Na y de +/- 0.3 para el K, se obtiene:

Na: 50% fiablemente intercambiables.

K: 76% fiablemente intercambiables.



## Conclusión:

Frente a una fiabilidad del 50% para el Na, se obtiene un 76% de fiabilidad para el K. Comparando el % obtenido en los resultados procesados, es aconsejable buscar otros métodos comparativos.

Se descarta el intercambio de resultados ya que son obviamente diferentes dentro del margen de error determinado para el estudio.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 139

### ESTABILIDAD DE LAS MUESTRAS DE SUERO A TEMPERATURA AMBIENTE PARA LA DETERMINACION DE ENOLASA NEUROESPECIFICA (NSE)

Autor/a/s: **MARIA ASCENSION SISO PEREIRO, MARIA JOSE RIOS RAMOS Y JESUS CASTILLO GOMEZ**

Centro de trabajo: **HOSPITAL UNIVERSITARIO NUESTRA SEÑORA DE VALME.**  
Localidad: **SEVILLA**

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

#### Introducción y objetivos:

La determinación de enolasa neuroespecífica en suero humano, se emplea para el control del tratamiento y la evolución de pacientes con carcinoma pulmonar de células pequeñas y neuroblastomas.

Al encontrarse presente en eritrocitos y plaquetas, puede ocasionar resultados falsos elevados, cuando la muestra tarda en centrifugarse y en analizarse.

La mayoría de las muestras sanguíneas que tienen petición de enolasa neuroespecífica, llegan a nuestro laboratorio, desde los Centros de Atención Primaria y de Especialidades del Área Hospitalaria de Valme.

Al existir en nuestra área centros que tardan más de una hora en hacernos llegar sus muestras, y teniendo en cuenta que la casa comercial especifica que hay que centrifugar las muestras de sangre dentro del plazo de una hora, hemos realizado un estudio para testar la estabilidad de las muestras durante mayor periodo de tiempo.

El objetivo es comprobar que se puede realizar una determinación de enolasa neuroespecífica con resultados fiables trascurrida más de una hora desde la extracción sanguínea.

#### Material y Métodos:

Sujetos del estudio: Muestras de 10 sujetos recogidas en tubos estándar de bioquímica sin gelosa ni aditivo conservante, a razón de 6 tubos de 2 ml por individuo. A las que se les hace un seguimiento temporal.

Parámetros bioquímicos: Enolasa neuroespecífica (NSE)

Método de estudio: Obtención de resultados al analizar las muestras en tiempo basal, tras centrifugación de la muestra una vez retraído el coágulo.

Obtención de resultados tras nueva centrifugación de las muestras a la hora, a las 2 horas, a las 3 horas, a las 4 horas y a las 6 horas de haber realizado la extracción (El analizador calcula automáticamente la concentración de enolasa neuroespecífica de cada muestra en ng/ml).

Posteriormente se establece el porcentaje de aumento o disminución de la actividad de las muestras estudiadas en relación a los tiempos de espera desde su extracción hasta la realización del análisis.

Metodología analítica: Inmunoensayo de Electroquimioluminiscencia

Sistema: MODULAR ANALYTICS E170 de Roche Diagnostic.

#### Resultados:

- Se obtienen resultados similares en la lectura basal, 60 min, 120 min y 180 min en las muestras conservadas a temperatura ambiente.
- Se observa un aumento en el valor obtenido en las muestras cuando transcurren más de 180 min. desde que se realiza la extracción.
- Se establece un porcentaje de incrementos en las fracciones de tiempo.

#### CONCLUSION

- Podemos realizar la determinación de enolasa neuroespecífica con obtención de un resultado de calidad cuando la muestra se analiza hasta transcurridos 180 min. desde que se realiza la extracción, a pesar de las especificaciones de la casa comercial.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 140

### ESTUDIO DE LA PREVALENCIA DE LOS DISTINTOS GENOTIPOS DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

Autor/a/s: **Tejedor Tejedor Laura, Mangas Gonzalez Fredesvinda, Rivera Reigada Maria Luisa, De la Prieta Bartolomé Alicia, Bravo Moral Isabel**

Centro de trabajo: **Hospital Virgen de la Concha. Localidad: Zamora**

Correo electrónico del primer firmante: **laura\_tejedor\_tejedor@hotmail.com**

#### Resumen:

El Virus del Papiloma Humano (HPV) es un virus ADN perteneciente a la familia Papovaviridae. La presencia de los genotipos considerados de alto riesgo de HPV está relacionada con más de un 99% de los casos de cáncer cervical en todo el mundo.

Existen más de 100 genotipos de HPV, sin embargo solo un subconjunto están relacionados con la displasia cervical de alto grado, y el cáncer cervical. Se clasifican en función del riesgo que implica su aparición.

Se utiliza el examen de Pap, cuyos inconvenientes son una gran cantidad de falsos negativos, y que un resultado anormal del examen obliga a repetir la prueba, a realizar una colposcopia y una biopsia. El HPV es muy difícil de cultivar in vitro, y no todos los pacientes infectados por el VPH presentan un título de anticuerpos demostrable. En la actualidad, las pruebas del ácido nucleico (ADN) mediante PCR son un método sensible y no invasivo para determinar la presencia de una infección activa por el virus del papiloma.

#### Objetivo:

Realizar un estudio sobre la prevalencia de los distintos genotipos de HPV según su clasificación de riesgo.

#### Material y Métodos:

Se ha realizado un estudio de muestras cervicales recibidas en el Hospital Virgen de la Concha de Zamora durante el año 2012 con el sistema HPV LINEAR ARRAY, diseñado para amplificar 37 genotipos de HPV, incluidos 13 genotipos de alto riesgo.

En el Cobas Ampliprep, se realizará la fase de preparación de muestra y extracción del ADN del HPV. La fase de amplificación en un termociclador Gene Amp PCR System mediante PCR. La fase de hibridación y detección se lleva a cabo en un Proflot T48, un complejo de color azul que precipita en las posiciones donde la hibridación ha tenido lugar, haciéndolas visibles.

#### Resultados:

Se han estudiado un total de 354 muestras de pacientes derivadas de la Consulta de Ginecología. Hemos obtenido un 55,4% de resultados negativos, un 42,4% de resultados positivos y un porcentaje casi despreciable, 2,3%, de positivos débiles. Del total de resultados positivos se ha categorizado una variable de 4 grupos en función del riesgo del VPHs obtenido: 1- VHPs de alto riesgo (69%), 2- VPHs de probable alto riesgo ( 5,7%), 3- VPHs de bajo riesgo ( 17,7%) y 4- VPHs de riesgo indeterminado(7,6%). Por otro lado, dentro del grupo de alto riesgo, el más importante para el diagnóstico de cáncer de cérvix, es el genotipo 16 con un 46,7% (p=0,0002) el más frecuente en nuestra población, como puede observarse en la tabla 1.

GENOTIPOS VPHs ALTO RIESGO												
	16	18	31	33	35	39	45	51	52	56	58	59
Frecuencia	50	4	12	4	5	5	1	6	8	4	4	4
Porcentaje (%)	46,7	3,7	11,2	3,7	4,7	4,7	0,9	5,6	7,5	3,7	3,7	3,7

#### Conclusión:

El genotipo más frecuente es el 16, clasificado dentro del grupo de alto riesgo de sufrir cáncer cervical.

Se trata de una buena técnica para el cribado junto a la citología, ya que si ambas son negativas, se recomienda repetir a los 5 años, en vez de la citología anual.

**ESTUDIO SOBRE EL RENDIMIENTO E INCREMENTO DE UN MARCADOR PARA PATOLOGÍAS INFLAMATORIAS INTESTINALES**

*Autor/a/s:* DIAZ ZAYAS, M<sup>a</sup> DOLORES; LÓPEZ GUTIERREZ, MONTSERRAT; DOMÍNGUEZ LÓPEZ, M<sup>a</sup> TERESA; NIETO AGUADO, M<sup>a</sup> SOLEDAD; GARCÍA LÓPEZ, M<sup>a</sup> DOLORES

*Centro de trabajo:* HOSPITAL COMARCAL DE LA AXARQUÍA. Localidad: VELEZ-MÁLAGA

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

**Introducción:**

El dolor abdominal y la diarrea son síntomas comunes en la población general que no permiten discriminar enfermedad intestinal orgánica. La colonoscopia es la prueba de referencia, pero es cara, invasiva, no puede repetirse con frecuencia y supone una gran carga asistencial.

La calprotectina fecal (CPF) es un marcador fácil y rápido de medir, no invasivo y barato, que podría detectar la enfermedad orgánica en la zona del colon.

**Objetivo:**

Evaluar el aumento en la demanda de calprotectina fecal durante el periodo 2009-2011 y primer trimestre de 2012, y el rendimiento de la prueba en los últimos 15 meses.

**Material y Métodos:**

Estudiamos la demanda de calprotectina fecal mediante el recuento de las solicitudes remitidas durante el periodo comprendido entre enero 2011 y marzo 2012. Las determinaciones de calprotectina se realizaron con un ensayo inmunoenzimático (ELISA) CALPREST de Eurospital. La prueba se considera negativa cuando la concentración es inferior a 50 µg/gr de heces, positiva débil entre 50 y 100 µg/gr de heces, y positiva cuando la concentración es superior a 100 µg/gr de heces. Se analizan variables clínicas como la edad y el sexo, así como la procedencia de las muestras, y se compara el aumento de demanda de calprotectina fecal en el intervalo estudiado en relación al periodo 2009-2011.

**Resultados:**

De las 630 muestras estudiadas, 422 (67%) resultaron negativas para la determinación de calprotectina y 208 (33%) positivas con valores de calprotectina >50mg/gr. De las 422 muestras negativas, 186 (44%) eran hombres y 236 (56%) mujeres y el valor medio de calprotectina fue 25.284 mg/gr. Se estudió igualmente la procedencia de las solicitudes: 378 (89.6%) procedían de Atención Primaria (AP), 3 (0.7%) de Consulta Externa (C.E) de Digestivo, 35 (8.3%) de C.E. Pediatría, 4 (0.9%) de planta de pediatría y 2 (0.5%) de C.E. de Medicina Interna.

De las 208 muestras positivas, 102 (49%) eran hombres y 106 (51%) mujeres y el valor medio de calprotectina 182.90 mg/gr. Según su procedencia: 191 (92%) fueron solicitadas desde AP, 1 (0.4%) de C.E. Medicina Interna, 14 (6.7%) de C.E. Pediatría y 2 (0.9%) de Planta de Pediatría.

Paralelamente se contabilizaron el número de determinaciones globales de calprotectina fecal, que durante el año 2009 fue de 101 solicitudes, en el año 2010 de 339, en el año 2011 de 462, y en el 1º trimestre de 2012 han sido de 168. Observamos por tanto un claro incremento de la demanda de calprotectina fecal como prueba complementaria en el diagnóstico clínico de patología gastrointestinal tanto en niños como en adultos.

**Conclusiones:**

- El 90.3% de las solicitudes de calprotectina fecal proceden de Atención Primaria.
- Se observa un claro incremento de la demanda de calprotectina fecal que alcanzó un 26.6% en el año 2011 con respecto al 2010.
- El rendimiento neto de la prueba es del 33%.

**ESTUDIO DE SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DEL TEST RÁPIDO DE EMBARAZO "ONE STEP PREGNANCY TEST" EN LABORATORIO DE URGENCIAS**

*Autor/a/s:* SÁNCHEZ MATEOS CARMEN BEATRIZ, MORÁN CRIADO MARÍA JESUS, RUIZ SANTOS MARÍA JOSÉ, PÉREZ GONZÁLEZ MARÍA ISABEL, MORÁN CRIADO ARACELI, SAN SEGUNDO VAL IGNACIO, MARQUÉS GARCÍA FERNANDO, MOYANO MAZA JOSÉ CARLOS

*Centro de trabajo:* COMPLEJO ASISTENCIAL DE SALAMANCA. Localidad: SALAMANCA

*Correo electrónico del primer firmante:* carmenbeatriz61@hotmail.com

**Introducción:**

La gonadotropina coriónica humana (hCG) es una glicoproteína secretada por las células del sincitiotrofoblasto de la placenta humana cuya producción es patente 7-10 días tras la fecundación. La hCG está formada por 2 cadenas: una alfa y otra beta. Su determinación es necesaria en el servicio de urgencias para evitar realizar pruebas radiodiagnósticas en mujeres posiblemente embarazadas.

**Objetivos:**

Estudiar la sensibilidad y especificidad del test rápido de β-hCG en orina "One Step Pregnancy Test".

**Material y Métodos:**

Se estudian un total de 197 pacientes, todas ellas mujeres en edad fértil, que acuden a urgencias hospitalarias. Se les toma una muestra de sangre en heparina de litio y una muestra de orina. La determinación en plasma de β-hCG se toma como referencia gold

standard de embarazo. El método utilizado para orina es "de Best Rapid test" "One Step Pregnancy Test" (Ameritck USA). El método utilizado en sangre es un test de inmunoensayo de electroquimioluminiscencia "ECLIA" concebido para el autoanálizador COBAS 601e (ROCHE®).

**Resultados:**

Sensibilidad del Test "One Step Pregnancy" =  $VP / VP + FN = 84/84+6 = 84/90 = 93\%$

Especificidad del Test "One Step Pregnancy" =  $VN / VN + FP = 107/107+0 = 100\%$

Valor Predictivo Positivo del Test "One Step Pregnancy" =  $VP / VP + FP = 84 / 84 + 0 = 100\%$

Valor Predictivo Negativo del Test "One Step Pregnancy" =  $VN / VN + FN = 107 / 107 + 6 = 94,7\%$

**Conclusiones:**

La sensibilidad del test "One Step Pregnancy" indica que no todos los embarazos son detectados por este método por lo que, es más recomendable determinar β-hCG en sangre. El valor predictivo negativo no es lo suficientemente bueno ya que algunos embarazos no son detectados.

**SCREENING DEL SÍNDROME DE CUSHING. FRENACIÓN CON DEXAMETASONA**

*Autor/a/s:* RIVERA GENTIL,ROCIO; GONZÁLEZ PACHECO,ANTONIO; DIAZ CAMPOS,JESUS MARIA; BERRAL BAENA,FRANCISCA;DONOSO SAYAGO, M<sup>a</sup> JOSE,SÁNCHEZ-MARTINEZ,PILAR MARÍA

*Centro de trabajo:* HOSPITAL VIRGEN MACARENA. Localidad:SEVILLA

*Correo electrónico del primer firmante:* rrgentil72@hotmail.com

**Introducción:**

El síndrome de Cushing se refiere a todo un conjunto de signos y síntomas que se producen como consecuencia de una prolongada e inapropiada exposición a altos niveles de glucocorticoides, sin importar su lugar de origen. Lo más frecuente es que se deba a exposición externa a glucocorticoides, el screening se realiza para descartar el síndrome de Cushing de origen endógeno. El nombre proviene de Harvey Cushing, neurocirujano que describió este cuadro clínico en 1932.El cortisol es la principal hormona glucocorticoidea sintetizada y secretada por la corteza suprarrenal, esencial para la vida, ya que regula el metabolismo de los hidratos de carbono, las proteínas y los lípidos, interviene en el mantenimiento de una presión arterial normal e inhibe las reacciones alérgicas e inflamatorias. El cortisol es sintetizado y secretado por la corteza suprarrenal en respuesta a la corticotropina (ACTH).El diagnóstico va a estar basado en la determinación de cortisol y ACTH. Estas pruebas ofrecen herramientas de diagnóstico para determinar la etiología del exceso de glucocorticoides. Los test de screening recomendados son: determinación de Cortisol tras Frenación con dosis única de dexametasona (DXM) de 1mg nocturno, determinación de Cortisol Libre en orina de 24 horas, ó Cortisol salivar a última hora de la noche.

## Objetivo:

Conocer el porcentaje de test de screening positivos tras la realización del test de frenación nocturno con 1mg de DXM, en la población dependiente del Hospital Universitario Virgen Macarena y área durante el pasado año 2012, valorando la respuesta a dicho test para favorecer un diagnóstico del mismo.

## Material y Métodos:

Muestra de pacientes estudiados para diagnóstico del síndrome de Cushing durante el pasado año 2012, a los cuales se les realizó la frenación con 1mg de dexametasona a las 23:00 horas en el autoanalizador ADVIA Centaur (Siemens®) determinando de forma cuantitativa los niveles séricos de cortisol basal y cortisol tras dexametasona mediante el test de frenación nocturna con DXM FORTECOR-TIN®.

La dexametasona es un potente glucocorticoide sintético. En los individuos sanos, una pequeña dosis del preparado administrada por la noche provoca una inhibición máxima de la secreción de ACTH y Cortisol a las 08:00 - 09:00 h del día siguiente, en el síndrome de Cushing, cualquiera que sea su causa, hay un fracaso de esta supresión.

## Procedimiento:

El primer día se efectuará la determinación de cortisol a las 9:00 h tras la administración de dexametasona 1mg a las 23h. El segundo día se realizará la extracción de sangre a las 9:00 h para cortisol tras la frenación. El ensayo Cortisol de ADVIA Centaur es un inmunoensayo competitivo que utiliza tecnología de quimioluminiscencia directa. El cortisol presente en la muestra del paciente compite con el cortisol marcado con ester de acridinio presente en el reactivo lumínico por la unión a un anticuerpo policlonal de conejo anti-cortisol presente en la fase sólida. El anticuerpo policlonal de conejo anti-cortisol está unido a un anticuerpo monoclonal de ratón anti-conejo, el cual está unido de forma covalente a partículas paramagnéticas de la fase sólida. El ensayo Cortisol de ADVIA Centaur es muy específico para el cortisol.

## Resultados:

Un descenso de la concentración de Cortisol tras DXM en valores <18 ng/ml (50 nmol/L) indica ausencia de síndrome de Cushing. (Frenación). Durante el pasado año 2012 se han realizado un total de 367 test de Frenación corta con DXM de los cuales 28 fueron positivos (No Frenación) y 339 negativos (Frenación). Nuestros resultados suponen un 7.62% (28 pacientes) de resultados positivos.

## Conclusiones:

Al ser el Síndrome de Cushing una enfermedad con una prevalencia muy baja (35-40 casos/millón), tendremos que descartar posibles falsos positivos procediendo a la realización de los test recomendados por la ESCG (The Endocrine Society's Clinical Guideline). La mayoría de pacientes con SC muestran concentraciones de cortisol sérico tras supresión mayores de 100 ng/ml

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 172**

### COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS DE MEDIDA EIA Y QL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA 1,25-DIHIPOXIVITAMINA D

*Autor/a/s: Pérez Vila, Raquel; Sánchez Pizarro, Elena; Otero del Río, Mª Dolores; Fernandez Muñoz, Mª del Carmen; Ledesma Mateos, Mercedes; Cirujano Segura, Ana; Sanz Tavira, Paloma.*

*Centro de trabajo: UNILABS SLU. Localidad: MADRID*

*Correo electrónico del primer firmante: ensayosclinicos@unilabs.es*

## Introducción:

La 1,25-dihidroxit vitamina D (1,25D) es uno de los principales reguladores del metabolismo del calcio y del fósforo. Es producto de la hidroxilación de una pequeña proporción de la 25-hidroxit vitamina D activa, que tiene lugar en el riñón.

La 1,25D es una hormona altamente calcitropic; esta característica permite definir la importancia de sus funciones: incrementar la absorción de calcio en el intestino, inducir la formación de osteoclastos para la reabsorción ósea y reducir la producción de hormona paratiroidea (PTH).

## Objetivo:

Estudio comparativo entre dos métodos para la determinación cuantitativa de 1,25D sérica: enzimo-inmunoanálisis (EIA) y quimioluminiscencia (QL).

## Material y Métodos:

En una población de 36 pacientes elegidos al azar se cuantifica la concentración sérica de 1,25D mediante dos técnicas diferentes. En ambos métodos se lleva a cabo una inmunopurificación manual previa a la cuantificación mediante inmunocápsulas con anticuerpo monoclonal anti-1,25D.

1. ELISA manual con una incubación previa mínima de 16 horas de la muestra inmunopurificada con una solución de anticuerpos primarios. La probabilidad de cometer errores aleatorios en una técnica manual se minimiza mediante la realización por duplicado de cada una de las muestras analizadas. Esto, unido a largos periodos de incubación y repetidos lavados, hace que se trate de una técnica compleja y tediosa. La técnica finaliza con la lectura de las densidades ópticas de la placa en el analizador Personal Lab.
2. Analizador IDS-iSYS basado en la técnica de quimioluminiscencia. La muestra, tras la inmunopurificación manual, se introduce en el equipo para su cuantificación totalmente automatizada.

## Resultados:

Se realizó una regresión lineal de Passing-Bablok, obteniéndose la ecuación  $y = 0,711x + 16,20$ , donde y representa los valores obtenidos por ELISA y x por QL.

El coeficiente de correlación fue  $r = 0.8420$ .

Los resultados obtenidos para las muestras analizadas fueron los siguientes: 8 muestras superiores a los valores de normalidad cuando se cuantificaron mediante ELISA y 5 mediante QL.

El estudio revela un 91,43% de concordancia.

## Conclusiones:

La buena correlación entre estos métodos nos ha permitido automatizar la cuantificación de la 1,25D con el analizador IDS-iSYS tras la purificación previa, consiguiendo reducir a más de la mitad el tiempo de realización.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 180**

### UTILIDAD DEL COCIENTE PSA LIBRE/PSA TOTAL EN EL CRIBADO DE CARCINOMA DE PRÓSTATA.

*Autor/a/s: EVA FLORINDA ORVIZ IGLESIAS; LORENA RODRÍGUEZ LORENZO; Mª BELÉN VELASCO ROZADA; Mª ROSA SECADES ROMERO.*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario Central de Asturias. Localidad: OVIEDO*

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

## Introducción:

El antígeno prostático específico (PSA) es una glicoproteína producida principalmente por las células epiteliales de la próstata. El PSA del líquido seminal participa, gracias a su acción proteolítica, en la licuefacción del coágulo seminal. Debido a su actividad enzimática, circula en la sangre mayoritariamente unido a proteínas plasmáticas y un pequeño porcentaje circula en forma libre.

La determinación de niveles de PSA en sangre es útil para la valoración de problemas prostáticos, tanto los referidos a la hipertrofia benigna como el cáncer de próstata. Junto con el tacto rectal, es el mejor marcador para la detección de estadios precoces de carcinoma de próstata.

El uso del cociente PSA libre/ PSA total mejora la sensibilidad y especificidad en pacientes con valores de PSA total entre 3-10 ng/ml. Cuando el valor es mayor de 0,18 se asocia a menor probabilidad de presencia de carcinoma y por lo tanto puede evitar la realización de biopsias innecesarias.

## Objetivo:

Determinar la relación existente entre los niveles de PSA total, PSA libre, cociente PSA libre/ PSA total y los diagnósticos de hipertrofia benigna y carcinoma de próstata.

## Material y Métodos:

Se analizan muestras de suero de 686 pacientes en un analizador Architect i2000 SR - ABBOTT® (reactivos, controles y calibradores de ABBOTT®). Se realizan las determinaciones de PSA y PSA libre mediante un inmunoensayo quimioluminiscente de micropartículas (CMIA).

Los valores de referencia en nuestro laboratorio son PSA: 0- 3 ng/ml; PSA-libre: 0,5-1,2 ng/ml. Relación PSA libre/ PSA total >0,18.



## Resultados:

Se encontraron 561 pacientes con valores de PSA dentro del rango de referencia y 24 con valores de PSA muy elevados.

Se revisan los diagnósticos de los 101 pacientes restantes que presentaban valores de PSA entre 3- 10ng/ml. Y con edades comprendidas entre 50 y 80 años.

	Relación PSA libre/ PSA total >0,18	Relación PSA libre/ PSA total < 0,18
Cáncer próstata(60 pacientes)	15 (25%)	45 (75%)
Hiperplasia benigna (41 pacientes)	40 (97,6%)	1 (2,4%)

## Conclusiones:

A la vista de los resultados obtenidos, se observa que la determinación de los cocientes PSA libre/ PSA total aumenta la sensibilidad y la especificidad del PSA. Es útil como método de cribado, cuando los valores del PSA total se encuentran entre 3- 10ng/ml, para la detección precoz del carcinoma de próstata.

La determinación del cociente PSA libre/ PSA total puede ayudar al clínico a establecer que pacientes requieren o no una biopsia.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 184

## SEDIMENTO URINARIO: COMPARACIÓN DE LA MICROSCOPIA AUTOMÁTICA IQ200 CON EL MICROSCOPIO ÓPTICO

Autor/a/s: Sanchez Muñoz Susana, Garcia Serrano Mari Carmen, Santos Nuñez Amparo, Fuentes Castilla Ester, Alba Macías Yolanda, Moreno Flores Fernando, Doladé Botías María.

Centro de trabajo: Hospital universitario Germans Trias i Pujol. Localidad: Badalona

Correo electrónico del primer firmante: susucorreo@hotmail.com

## Introducción:

El sedimento urinario es una prueba analítica que permite el diagnóstico de enfermedades del tracto urinario y renal y una de las más solicitadas en el laboratorio.

El analizador IQ 200 (IQ) es un microscopio automático que reconoce imágenes, las analiza, las clasifica y las cuantifica.

## Objetivo:

El objetivo de este trabajo ha sido evaluar la concordancia de los resultados obtenidos en la detección de elementos del sedimento urinario entre el método automatizado IQ y la microscopía óptica (MO).

## Material y Métodos:

Se seleccionan 200 muestras de orina patológicas recibidas en nuestro laboratorio durante los meses de diciembre de 2012 a enero de 2013, procedentes de pacientes hospitalizados y pacientes de atención primaria.

Las partículas a identificar por ambos métodos fueron: hematíes, leucocitos, células escamosas, células transicionales y bacterias.

Las muestras se analizaron en primer lugar, sin centrifugar mediante el microscopio automático IQ y a continuación se centrifugan a 2000 rpm durante 3 minutos, y se examinan con MO a 400 aumentos con luz ordinaria en distintos grupos de trabajo.

Los resultados obtenidos para cada partícula estudiada, se analizan mediante el paquete estadístico para Windows SPSS 15.0.

## Resultados:

Los resultados obtenidos por los dos métodos se clasificaron en distintas categorías para cada uno de los parámetros estudiados.

Del total de orinas estudiadas se detectan 118 casos con presencia de >2 hematíes/campo, el MO identifica el 82,2% y IQ el 76,2%, 159 casos con presencia de >4 leucocitos /campo, el MO identifica el 91,8% y IQ el 89,9%, se detectan 146 casos con presencia de bacterias, el MO identifica el 87,0% y IQ 60,9%.

El grado de concordancia entre los resultados obtenidos para cada partícula analizada, se cuantifican mediante el Índice Kappa de Cohen (k). Los resultados obtenidos fueron: Hematíes k=0.65, leucocitos k=0.67, células escamosas k=0.57 y

células transicionales k=0.49 con significación estadística (p<0.001). Las bacterias k=0.20 no presentan significación estadística (p=0.062).

## Conclusiones:

Los datos estadísticos muestran que existe concordancia entre los resultados obtenidos mediante IQ y MO para hematíes, leucocitos, células escamosas y células transicionales. Para la detección de bacterias, la concordancia entre los resultados obtenidos con los métodos estudiados no fue estadísticamente significativa (p=0.062).

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 197

## COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS DE MEDIDA DE GLUCOSA

Autor/a/s: Martínez Chincolla, Carolina; Herrero Berrocal, María; Llorva Galán, Alexandra; Elorza Méndez, Silvia; Arribas Herrero, Beatriz; Montero Rodríguez, Luis Alberto; Hernández Álvarez, Elena

Centro de trabajo: Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda  
Localidad: Majadahonda

Correo electrónico del primer firmante: curry\_78@hotmail.com

## Resumen:

A todos los pacientes que acuden al área de Extracciones del H.U. Puerta de Hierro-Majadahonda a realizarse un test de Sobrecarga Oral de glucosa (SOG) para el diagnóstico de diabetes se les determina la glucemia basal con los glucómetros como método de seguridad previo a la realización de la prueba. La sobrecarga de glucosa se administra siempre que la glucemia basal sea inferior a 126 mg/dl. En el caso de que se encuentre entre 115 y 135 mg/dl, se envía una muestra de suero al Laboratorio, para comprobar la concentración de glucosa con el método de referencia, y no se administrará, en ningún caso, cuando ésta sea superior a 126 mg/dl.

## Objetivo:

Comparar los resultados obtenidos en la determinación de glucosa mediante un glucómetro y un autoanalizador.

## Material y Métodos:

1) Sujetos de estudio: Se determinó la glucemia basal a 129 pacientes a los que se les había solicitado un test de sobrecarga oral de glucosa para el diagnóstico de diabetes. En todos los casos, la concentración de glucosa se midió con 2 métodos: en sangre total, con un glucómetro del Servicio de Extracciones; y en el analizador del Laboratorio de Bioquímica Clínica en suero.

2) Equipos:

– GLUCOCARD™ G+ meter (A. Menarini Diagnostics): Analizador de -D-Glucosa en sangre total mediante una técnica electroquímica. El analizador funciona con las tiras reactivas GLUCOCARD G sensor. La glucosa de la muestra reacciona con la glucosa deshidrogenasa y el ferricianuro potásico de la tira, dando lugar a ferrocianuro potásico, que es proporcional a la concentración de glucosa de la muestra.

– Analizador ADVIA 2400 Chemistry Systems (Siemens): Sistema espectrofotométrico que presenta un método enzimático (hexoquinasa y glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa) a punto final para la determinación de glucosa.

Análisis de datos: se realizó un estudio de correlación y regresión simple y un estudio de concordancia con el método de Bland-Altman. Para ello, se utilizó el programa informático IBM-SPSS v.14.0.

## Resultados:

La correlación existente entre ambas mediciones (r=0.777; p<0.001) objetiva una asociación positiva y lineal.

Glucómetro= 15.63 + 0.813x Advia.

Para evaluar la concordancia entre los dos sistemas de medidas, se utiliza el método Bland-Altman. Este procedimiento consiste en representar gráficamente las diferencias entre dos mediciones frente a su medida. La media de las diferencias, correspondientes a los valores de glucosa determinados en el glucómetro menos los valores determinados por el laboratorio, es -0.031. Las diferencias presentan una distribución homogénea a lo largo del eje de abscisas. Los límites de confianza al 95% para esta diferencia están entre -0.9762 y 0.9136 y los límites de concordancia están entre la media  $\pm 2$  desviaciones estándar, es decir -0.031 $\pm$ 10.80 (-10.831 y 10.769).



## Conclusiones:

A pesar de que no existe una buena correlación entre los dos métodos estudiados, existe una buena concordancia, y las diferencias encontradas son homogéneas en todo el rango de medida.

Esto nos permite utilizar los glucómetros como método de seguridad hacia el paciente exclusivamente, ya que el diagnóstico de diabetes no se puede determinar con dicho método, sino con el sistema validado por el Laboratorio.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 198

## EVOLUCIÓN DEL CRIBADO PRENATAL DE ANEUPLOIDÍAS EN EL SEGUNDO TRIMESTRE DE GESTACIÓN

*Autor/a/s: Gabriela Rodríguez Ávila, Abel Cortés, Elena Casals Font*  
*Centro de trabajo: Hospital Clínico de Barcelona. Localidad: Barcelona*  
*Correo electrónico del primer firmante: gabbyfranklin@hotmail.com*

### Introducción:

En el protocolo de la Agencia de Salud Pública de Cataluña, se contempla la posibilidad de que todas las mujeres embarazadas, previa información médica, puedan someterse al cribado prenatal de Aneuploidías.

En función de la semana gestacional en la que se encuentren pueden participar en el cribado de 1er ó 2do trimestre.

Hace 20 años los marcadores bioquímicos utilizados en el cribado de 2do trimestre eran la fracción  $\beta$  libre de la Hormona Gonadotropina Coriónica ( $\beta$ hCG) y la Alfafetoproteína (AFP). En los 2 últimos años se ha incorporado el Estriol no conjugado (UE3) y la Inhibina-A.

### Objetivo:

Evaluar los cambios que nos aportan la incorporación del UE3 y la Inhibina-A.

Material y método:

Hemos comparado los resultados obtenidos en las dos épocas mencionadas, con 2 marcadores (años 2000-2009) y 4 marcadores (años 2010-2011), respectivamente. Las determinaciones de AFP,  $\beta$ hCG y UE3 se han realizado en el analizador Delphia Xpress, la Inhibina A se ha determinado mediante una técnica ELISA adaptada al Best 2000. Para el cálculo del riesgo se ha utilizado el programa LifeCycle versión 3.

### Resultados:

Se incluyen un total de 13895 gestaciones, de las cuales 8715 corresponden a la época 2000-2009 con 15 casos de Síndrome de Down.

5180 gestaciones corresponden a la época 2010-2011 con 15 casos de aneuploidías detectadas y 1 caso de falso negativo.

La tabla 1 muestra la efectividad del cribado mediante los cálculos de la sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo, los cuales nos permiten observar una mejoría en la tasa de detección (80 frente a 93,75%) y una reducción de la tasa de falsos positivos (12.46 frente a 10.06%)

Tabla 1	2 marcadores $\beta$ hCG-AFP	4 marcadores $\beta$ hCG-AFP- UE3 - Inhibina-A
n	8715	5180
SD	15	16
Cribados + ( $\geq 1/250$ )	1086 (12.46%)	521 (10.06%)
Sensibilidad	12/15 (80%)	15/16 (93.75%)
Especificidad	7626/8700 (87.66%)	4658/5164 (90.21%)
VPP	12/1086 (1,11%)	15/521 (2.88%)
VPN	7626/7629 (99.96%)	4658/4659 (99.98%)

### Conclusión:

Mediante la incorporación de los dos marcadores hemos conseguido disminuir los cribados positivos en un 2,4% lo que se traduce en una disminución de las pruebas invasivas, aumentando la tasa de detección en un 13,75% dando al cribado más sensibilidad y eficacia

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 200

## ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD BIOLÓGICA INTRAINDIVIDUAL DE LA TROPONINA T ULTRASensible EN PACIENTES CON INSUFICIENCIA CARDIACA

*Autor/a/s: Rubio Campos, Teodora-Lucía; López González M<sup>a</sup> Teresa; García Parra M<sup>a</sup> Carmen; Robles Sánchez Raquel; Cortés Bosch de Basea, Anna*

*Centro de trabajo: Laboratorio Clínico Hospital de Viladecans. Localidad: Viladecans*

*Correo electrónico del primer firmante: trubio.hv@gencat.cat*

### Introducción:

Las troponinas son una familia de proteínas presentes en las fibras musculares y esqueléticas. El músculo cardíaco contiene las isoformas T e I que están codificadas por genes distintos de las que proceden del músculo esquelético. Por este motivo una elevación de dichas troponinas es indicativa de lesión en el tejido cardíaco. La cinética de la troponina hace que sea un buen marcador para la valoración de cuadros de isquemia miocárdica ya que sus concentraciones se mantienen elevadas, al menos, una semana después del inicio de los síntomas.

### Objetivos:

Actualmente se han desarrollado técnicas de detección de troponina T ultrasensible que permiten detectar concentraciones diez veces más pequeñas. El objetivo de este estudio es hacer una estimación de la variabilidad intraindividual de la troponina T ultrasensible en pacientes con insuficiencia cardíaca y del valor significativo del cambio en las condiciones de trabajo del laboratorio del hospital de Viladecans.

### Material y Métodos:

A partir de dos medidas de troponina en pacientes que presentan alguna patología cardíaca se establece la variación de concentración a partir de la cual se puede atribuir a un estado patológico presente en el momento de la extracción y no a otras patologías subyacentes.

Los pacientes seleccionados para este estudio son pacientes hospitalizados que presentan insuficiencia cardíaca con una edad superior a los 50 años. Por otro lado también se han seleccionado pacientes ingresados sin patología cardíaca para comprobar si la concentración de troponina se encuentra dentro del percentil 99 teórico. De estos pacientes quedan excluidos los que tengan algún tipo de patología renal o anemia ya que estos trastornos pueden alterar las concentraciones de troponina.

La determinación de la concentración de troponina T ultrasensible se realiza mediante el ensayo Elecsys Troponin T-High sensitive (cTNT-hs) en el analizador cobas E411 Roche Diagnostics.

### Resultados:

Se calcula el coeficiente de variación biológica intraindividual ( $CV_{bw}$ ) teniendo en cuenta tanto la variabilidad métrica (6.48%) como la varianza biológica. Se obtiene un  $CV_{bw} = 10.136$  que indica cuál es la variabilidad debida al sujeto que presenta insuficiencia cardíaca. Una vez conocido el CV se calcula el RCV (Reference Change Value) que es el CV referido a las condiciones de trabajo.  $RCV = 33.34\%$

Con el grupo poblacional de personas sin afectaciones cardíacas se calcula la concentración de troponina que corresponde al percentil 99 y que es de 15.5 ng/dL. El percentil 99 que indica la bibliografía es de 14 ng/dL.

### Conclusión:

El valor de concentración de troponina del percentil 99 de la población sigue el mismo orden que el que se encuentra en la bibliografía,

Cuando la concentración de troponina es superior a la del percentil 99 hay que observar las fluctuaciones de dicha concentración en el tiempo.

Sabiendo que el valor del RCV para nuestro laboratorio es de 33.34%, todos los pacientes que presenten una variación superior o igual a 33.34% de la concentración de troponina en la segunda determinación deberán ser estudiados por una probable lesión miocárdica.

### EVALUACIÓN DE LA DETERMINACIÓN DE TÓXICOS EN ORINA EN EL ÁREA SUR DE GRANADA (HOSPITAL SANTA ANA DE MOTRIL)

Autor/a/s: Virtudes Melguizo Morales, Esperanza Manuela Montoro Herrera y M<sup>a</sup> José Ruiz Pérez

Centro de trabajo: Hospital Santa Ana. Localidad: Motril

Correo electrónico del primer firmante: [virmelmo@gmail.com](mailto:virmelmo@gmail.com)

#### Resumen:

El test de detección de tóxicos en orina, es un método rápido que se realiza en el laboratorio de urgencias.

Todas las drogas que entran en el cuerpo humano son metabolizadas en el hígado (transformadas en sustancias eliminables denominadas metabolitos) y eliminadas por el riñón (aunque también pueden eliminarse por las heces, sudor, etc.). Por ello son detectables en la orina.

El análisis se realiza mediante un test de detección rápida cualitativo (el resultado indica la presencia o ausencia del tóxico o sus metabolitos en la orina pero no informa sobre la magnitud de la intoxicación).

Este test determina la presencia de metanfetaminas, opiáceos, metabolitos de la cocaína, metabolitos de tetrahidrocannabinol, feniclidina, benzodiacepinas, barbitúricos, metadona, antidepresivos tricíclicos y anfetaminas.

#### Objetivos:

Evaluar los resultados obtenidos en el Hospital Santa Ana (Motril) durante el periodo comprendido entre 1 de Enero del 2011 al 30 de Septiembre del 2012.

#### Material y Métodos:

En el presente estudio, se han analizado 852 orinas pertenecientes a pacientes del Hospital Santa Ana de Motril, durante el periodo comprendido entre el 1 de Enero de 2011 al 30 de Septiembre del 2012. En estas orinas se han realizado la determinación de tóxicos (metanfetaminas, opiáceos, metabolitos de la cocaína, metabolitos de tetrahidrocannabinol, feniclidina, benzodiacepinas, barbitúricos, metadona, antidepresivos tricíclicos y anfetaminas).

La técnica para la determinación de estos tóxicos es por Inmunoanálisis cromatográfico de fase sólida. La prueba se basa en la competición para enlazarse con los anticuerpos entre los conjugados de la droga y las drogas que pueden estar presentes en la muestra de orina. Esta técnica se realiza en el analizador DXpress Reader.

Las orinas proceden de pacientes del Servicio de Urgencias (789), Pediatría (34), UCI (16), Salud Mental (9) y Medicina Interna (4).

#### RESULTADOS

De las 852 orinas analizadas, 363 (42,6%) fueron negativas, y 489 (57,4%) positivas a alguno de los tóxicos.

Son positivas a un solo tóxico 352 (41,3%), a dos tóxicos 98 (11,5%), a tres tóxicos 30 (3,5%), a cuatro 6 (0,7%), a cinco 2 (0,2%) y a todos 1 (0,1%).

#### Conclusiones:

La determinación de tóxicos en orina es un método rápido que se realiza en el laboratorio de Urgencias.

Esta determinación está automatizada, y permite la detección de 10 tóxicos con un solo paso.

En los últimos años ha bajado el consumo de anfetaminas y ha aumentado el consumo de benzodiacepinas.

#### Resumen:

La enfermedad celiaca es una intolerancia permanente al gluten que forma parte de algunos cereales de la dieta, intolerancia capaz de provocar lesiones serias de la mucosa intestinal y cuyas manifestaciones clínicas pueden ser muy variadas. Esto da lugar a distintas formas de presentación siendo la forma clásica aquella en la que predominan los síntomas digestivos (diarrea malabsortiva, vómitos, distensión abdominal,...) y la afectación nutricional, siendo la forma típica en niños pequeños.

Aunque clásicamente se ha considerado como una enfermedad propia de niños pequeños, existen formas atípicas de presentación en las que los síntomas digestivos están ausentes u ocupan un segundo lugar, siendo propias de niños mayores, así como también existe la enfermedad celiaca del adulto.

Debido a la diversidad de manifestaciones, la detección de la enfermedad celiaca es difícil desde el punto de vista clínico por lo que para su diagnóstico la detección de marcadores serológicos por parte del laboratorio se convierte en una herramienta fundamental. Clásicamente, las determinaciones serológicas empleadas en el diagnóstico de esta enfermedad han sido los anticuerpos anti-antigliadina, antirreticulina y antiendomiso, fundamentalmente de clase IgA; pero en los últimos años la más usada debido a su elevada sensibilidad y especificidad, son los anticuerpos anti-transglutaminasa (ATG) clase IgA, que además, ha permitido automatizar las determinaciones pudiendo ser utilizada como un método de cribado poblacional.

#### Material y Métodos:

En el presente estudio, se han analizado 2985 sueros pertenecientes a pacientes del Hospital Santa Ana de Motril, durante el periodo Enero 2007-Diciembre 2009. En estos sueros se han realizado la determinación de anticuerpos anti-transglutaminasa en el analizador Inmunocap 250 (Phadia) mediante la técnica de enzimo-inmunoensayo, considerándose positivos aquellos sueros con un valor superior a 10U/ml. Todos los sueros con resultados positivos fueron confirmados mediante la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta IFI para anticuerpos antiendomiso IgA, usando como soporte esfago distal de mono.

Los sueros proceden de pacientes tanto de Atención Primaria como especializada, siendo tres sus principales orígenes: Medicina Interna (digestivo), Pediatría y Atención Primaria.

#### Resultados:

De los 2985 sueros analizados, 98 (3,28%) presentaron un resultado positivo de anticuerpos ATG clase IgA, el 100% de los cuales fueron antiendomiso IgA positivo. Estos 98 sueros correspondieron a 68 pacientes diferentes, cuyo origen en el momento del diagnóstico fue: pacientes pediátricos (menores de 14 años) 40 y adultos 28. Si analizamos el número de determinaciones por año, se observa un claro aumento progresivo en la solicitud de dicha determinación (739 en 2007, 1043 en 2008 y 1203 en 2009) cosa que no ocurre con el número de sueros positivos por año (33 en 2007, 31 en 2008 y 34 en 2009).

#### Conclusiones:

La determinación de anticuerpos ATG IgA es la herramienta de laboratorio más eficaz para el diagnóstico de la enfermedad celiaca, debido a su alta sensibilidad y especificidad.

Al estar esta determinación totalmente automatizada, permite el manejo rápido de un gran número de muestras, sin estar además sujeta a la laboriosa realización de la IFI ni a la interpretación subjetiva de los resultados de la misma (anticuerpos antiendomiso) lo que la hace adecuada para métodos de cribado poblacional.

El número de determinaciones de ATG se ha ido aumentando en estos 3 años, aunque el número de positivos por año se ha mantenido estable, lo que sugiere un posible exceso en la solicitud médica de determinación de ATG (mala selección de los pacientes) que puede estar justificada por la cada vez mayor rapidez en la disponibilidad del resultado gracias a la automatización. Sin embargo, esto ha permitido detectar una mayor cantidad de pacientes adultos que se diagnostican de nuevo en los que las manifestaciones clínicas no son las que habitualmente se presentan en niños (se observa una tendencia a diagnosticar cada vez más pacientes adultos que niños) o que está de acuerdo con la clásica representación de la incidencia de esta enfermedad como un iceberg (son mucho más los pacientes sin diagnosticar que los diagnosticados debido a la gran variedad de síntomas clínicos que se pueden presentar).

Plantear la posibilidad de ampliar el uso de ATG en otras patologías distintas a las digestivas como cuadros de anemia refractaria o infertilidad, campos en los que su uso aún está poco extendido.

### EVALUACIÓN DE LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-TRANSGLUTAMINASA EN PACIENTES DEL ÁREA SUR DE GRANADA (HOSPITAL SANTA ANA DE MOTRIL)

Autor/a/s: Virtudes Melguizo Morales, Esperanza Manuela Montoro Herrera y Pilar Rosa Martorell Armenteros

Centro de trabajo: Hospital Santa Ana. Localidad: Motril (Granada)

Correo electrónico del primer firmante: [virmelmo@gmail.com](mailto:virmelmo@gmail.com)

## ESTUDIO ANALITICO DEL CONSUMO DE DROGAS DE ABUSO EN ORINA EN NUESTRA AREA HOSPITALARIA

Autor/a/s: MONGE CAMACHO, MARIA DE PATROCINIO; RIOS RAMOS, MARIA JOSE; GARCIA RODRIGUEZ, DOLORES

Centro de trabajo: HOSPITAL VIRGEN DEL VALME. Localidad: SEVILLA

Correo electrónico del primer firmante: PATRICHI16@GMAIL.COM

### Introducción:

La solicitud de tóxicos en orina ha aumentado de forma significativa en los últimos años, siendo de gran utilidad el empleo de test multidroga que permiten una detección cualitativa de las sustancias de abuso de consumo mas frecuentes. Una de sus principales ventajas es el análisis simultaneo de distintos tóxicos y la rapidez de los resultados.

### Objetivos:

Conocer que clase de drogas de abuso son más consumidas en nuestra área hospitalaria al objeto de valorar la posibilidad de modificar nuestro protocolo de trabajo y optimizar recursos.

### Material y Métodos:

Estudio retrospectivo de las peticiones de drogas de abuso de orina recibida en nuestro laboratorio durante los años 2011 y 2012. El análisis se realizó empleando el test TOX/see tm Drug screen de BIO-RAD, basado en un inmunoensayo cromatográfico del flujo lateral de 10 analitos (AMP, anfetaminas, BAR, barbitúricos, BZO, benzodiacepinas, COC, cocaína, THC, marihuana, MTD, metadona, MET, metanfetamina, MDMA, metilenedioximetanfetamina, OPI, opiáceo, TCA, antidepressivos tricíclicos). Los resultados se informaron cualitativamente como positivos o negativos según aut-off del fabricante.

### Resultados:

Se analizaron 1630 peticiones, cada una de las cuales incluía el análisis de AMP, BAR, BZO, COC, THC, MTD, MET, MDMA, OPI Y TCA. Los resultados más relevantes fueron los siguientes:

1. El 73,3% de las muestras remitidas a estudio (n=1196) fueron positivas a algunas de las drogas analizadas.
2. De estas 1196 muestras con resultados positivos, el 9,3%. Lo fue por policonsumo, mientras que el 90,7% tuvo su origen en una sola droga.
3. En los casos de policonsumo la combinación mas frecuente fue COC+BZO, seguida de COC+THC. 4. Los resultados positivos para cada tipo de droga sobre el total de las peticiones analíticas realizadas fueron los siguientes: TC A, 55(3,3%), AMP, 2(0,1%), BAR, 7(0,4%), BZO, 923(55,3%), COC, 178(10,7%), MET, 5(0,3%), OPI, 39(2,3%), THC, 332(19,9%), MTD, 63(3,8%), MDMA, 111(6,75%).

### Conclusiones:

Las peticiones de tóxicos en orina están bien orientadas, ya que mas de la mitad de los análisis realizados fueron positivos. El tóxico mas detectado fue BZO, aunque no es posible distinguir entre tratamiento médico y/o abuso.

## EVALUACION DE LIQUIDOS BIOLOGICOS CON PRESENCIA ELEVADA DE CELULAS DE ALTA FLUORESCENCIA.

Autor/a/s: Begoña Gloria Varela Soto, Carmen Mendoza Ruiz, Igone Imaz Allende, Aranzazu Díez de Diego, Mar Tueros Gomez y Francisco Javier Aguayo Gredilla.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO BASURTO. Localidad: BILBAO

Correo electrónico del primer firmante: mbgvarela@gmail.com

### Introducción:

En la actualidad en nuestro laboratorio el estudio de los líquidos biológicos (LB), tanto el estudio bioquímico como el recuento celular, se realiza de forma automatizada. En el recuento celular, no sólo se diferencian leucocitos (con sus diferentes subtipos) y hematíes, si no que además se detecta la presencia de células de

alta fluorescencia (CAF). Estas células representan formas inmaduras que pueden deberse a procesos inflamatorios agudos o incluso alertar hacia la existencia de células de estirpe tumoral, sospechosas de la presencia de un proceso carcinomatoso en el paciente.

### Objetivos:

El objetivo de nuestro trabajo es evaluar la presencia de CAF en LB, comparando este hallazgo con los datos que aparecen en el informe del estudio anatomo-patológico (AP) del mismo LB, para valorar si la presencia de CAF se correlaciona con la presencia de células tumorales (CT) en el estudio AP.

### Material y Métodos:

Se estudian todos los LB (948) que se enviaron al laboratorio en el último cuatrimestre del año 2012, a través de una consulta (Infomega) sobre la base de datos del laboratorio (Omega). Se seleccionaron los LB con más del 10% de CAF (131), clasificándolos en los intervalos 10-20%, 21-30%, 31-40% y mayores del 41%. De estos 131 LB, sólo en 78 casos se dispuso del estudio AP: 57 Ascíticos, 18 Pleurales, 2 Cefalorraquídeos y 1 Pericárdico. En ningún líquido articular se había realizado estudio AP.

El recuento celular y la cuantificación de las CAF se realizó mediante un Sysmex-5000 (Roche), empleando impedanciometría, citometría de flujo y tinción fluorescente. El informe AP se obtuvo a partir del sistema informático hospitalario (Global Clinic).

### Resultados:

En el grupo 10-20% (49 casos) se encontraron 3 (6%) con presencia de CT y 46 procesos inflamatorios (INF). En el grupo de LB con más del 21% CAF (29 casos) se detectaron 4 con CT (14%) y el resto fueron INF. Encontramos 7 LB con más del 41% de CAF, de los que 2 (28%) presentaban CT, y el resto fueron INF. La muestra en la que se detectaron más CT en el informe AP fue el Líquido Ascítico (6 ; 10%), seguida de los líquidos pleurales (1 ; 5%)

### Conclusiones:

- 1.- La causa más frecuente de aumento del porcentaje de CAF (>10%) son los procesos inflamatorios (71 casos; 91%)
- 2.- Existe una relación positiva creciente entre el porcentaje de CAF y la presencia de CT, encontrándose sólo un 6% en el intervalo 10-21 y hasta el 28% en los >41.
- 3.- La presencia de un alto porcentaje de CAF (especialmente > 40%) puede alertarnos hacia la detección de un proceso tumoral en el estudio de los LB

## COMPARACIÓN DEL MÉTODO NT-PROBNP: ANALIZADOR SIEMENS DIMENSION RXL MAX Y ANALIZADOR RADIOMETER AQT90 FLEX

Autor/a/s: M<sup>a</sup> Carmen García Serrano, Susana Sánchez Muñoz, Yolanda Alba Macías, Marc Morales Indiano, Jaume Barallat Martínez de Osaba, Amparo Santos Nuñez, Ester Fuentes Castilla, M<sup>a</sup> Cruz Pastor

Centro de trabajo: Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Localidad: Badalona

Correo electrónico del primer firmante: feredi2308@gmail.com

### Introducción:

La determinación de pro-péptido natriurético cerebral N-terminal (NT-proBNP) ayuda a identificar a los sujetos con disfunción del ventrículo izquierdo. Los cambios en su concentración plasmática pueden utilizarse para la monitorización de la insuficiencia cardíaca.

La disfunción del ventrículo izquierdo puede ocurrir como parte de cardiopatía coronaria, hipertensión arterial, valvulopatías y enfermedad miocárdica primaria.

### Objetivo:

Comparar el método para la determinación de NT-proBNP de dos analizadores, Dimension RXL Max Siemens (plasma heparina de litio) y AQT90 Flex Radiometer (sangre total EDTA).

### Material y Métodos:

Se obtuvieron muestras de sangre total anticoagulada con EDTA y de plasma anticoagulado con heparinato de litio, simultáneamente, de 48 pacientes de la unidad de insuficiencia cardíaca del Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. El plas-



ma se analizó mediante inmunoensayo heterogéneo basado en el principio "sandwich" (Dimension RXL Max Siemens) y la sangre total mediante fluorimetría de resolución temporal con marcador de europio (quilato de lantánido) (AQT90Flex Radiometer). Ambos métodos fueron calibrados según las especificaciones del proveedor. Se generó una base de datos de resultados en Microsoft Excel y se valoró la correlación entre ambos métodos mediante los análisis de Passing-Bablok mediante el programa MedCalc.

### Resultados:

En el analizador Dimension RXL Max la mediana de concentración de NT-proBNP 1201.3 ng/L [Rango intercuartílico 213.35-3896.08]. En el analizador AQT90Flex la mediana fue 1245 ng/L [Rango intercuartílico 378-3430]

El coeficiente de correlación entre ambos métodos, obtenido mediante regresión lineal fue 0.9836

La ecuación que correlacionaba ambos resultados es la siguiente:

Concentración AQT90= Concentración Dimension \*1.0894 [IC 95% = 1.0301-1.1319]+ 21.6837 [IC 95% = -6.1653-76.6552] ng/L

### Conclusiones:

Obtuvimos una correlación adecuada entre los dos métodos para medir la concentración de NT-proBNP, tanto en plasma como en sangre total. Por tanto el cambio de método y de matriz no afecta la monitorización analítica y clínica de los pacientes con insuficiencia cardíaca, siempre teniendo en cuenta que los resultados de AQT90 son ligeramente más elevados. El analizador AQT90 es más practicable, dado que presenta la posibilidad de realizar las determinaciones de forma individual, lo que permite una mejor conservación de los reactivos. De esta manera se pueden obtener resultados día a día, minimizando la necesidad de agrupar las muestras para cada análisis.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 210**

## VALOR DE LA PROCALCITONINA EN EL ANÁLISIS DE CLUSTERS APLICADO A RESULTADOS DE 100 ANALÍTICAS DE PACIENTES CON SOSPECHA DE INFECCIÓN BACTERIANA.

*Autor/a/s: Ortega Montoro, M<sup>a</sup> José; Campos Alandí, Consuelo; Yanguas Navarro, Ana.*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario Dr. Peset. Localidad: Valencia*

*Correo electrónico del primer firmante: mjortega13@hotmail.com*

### Introducción:

La Procalcitonina es un biomarcador precoz que aumenta específicamente durante la infección y sepsis bacteriana. Actualmente es reconocida como una herramienta muy útil en procesos diagnósticos. Se ha demostrado que puede ayudar tanto en el diagnóstico temprano de infección bacteriana grave como en la optimización del tratamiento antibiótico y en la monitorización de la duración del mismo. La Procalcitonina es utilizada en diferentes ámbitos hospitalarios en donde el diagnóstico etiológico de infección es incierto, así como cuando existe una necesidad clínica de estratificar el riesgo de los pacientes, determinar la severidad de la infección o bien conocer con mayor precisión si el tratamiento antibiótico es efectivo.

La clasificación es uno de los objetivos fundamentales de la ciencia. El Análisis de Clusters es un conjunto de técnicas multivariantes utilizadas para clasificar a un conjunto de individuos en grupos homogéneos o clusters. Con el Análisis de Clusters se pretende encontrar un conjunto de grupos a los que ir asignando los distintos individuos por algún criterio de homogeneidad. Aunque se trata de una herramienta muy útil para observar relaciones entre parámetros, no se utiliza habitualmente en el ámbito del laboratorio clínico excepto en la clasificación de microorganismos.

### Objetivos:

- Realizar un análisis estadístico descriptivo de los resultados del biomarcador Procalcitonina en un grupo de pacientes procedentes de diversos servicios hospitalarios de nuestro hospital.
- Segmentar una población de pacientes en grupos, en función de resultados analíticos de Procalcitonina y otros parámetros, mediante una agrupación jerárquica (produciendo clusters de diferentes niveles y estructurados de una forma ordenada, estableciendo una jerarquía). De esta forma, se pretende llevar a cabo la formulación de una Taxonomía exploratoria utilizando el programa informático de libre distribución R.

- Valorar la capacidad de clasificación de las variables que intervienen inicialmente en el problema.

- Revelar relaciones entre los individuos estructurados jerárquicamente.

### Material y Métodos:

Se han incluido los resultados analíticos de 100 pacientes procedentes de distintos Servicios del Hospital Dr. Peset de Valencia, recopilados a lo largo de 30 días. Para el análisis estadístico básico se ha utilizado el programa Microsoft Excel 2003 © y para el análisis jerárquico el programa de libre distribución R (versión 2.15.2). Los parámetros estudiados fueron: concentraciones de Procalcitonina, Creatinina, Albúmina, PCR y Leucocitos. Se obtuvieron dendrogramas para cada parámetro y para diversas combinaciones de ellos, utilizando para la clasificación jerárquica el método de Ward y la distancia euclídea.

### Resultados:

El 47% de los valores de Procalcitonina son inferiores a 0,5 (negativos), mientras que el 11% son superiores a 10 (positivos). El resto corresponde a niveles de riesgo moderado (25%) y alto (17%). No existe correlación entre las variables Procalcitonina y PCR y no se ha observado ningún caso con niveles elevados de Procalcitonina y PCR baja. Por servicios, Urgencias es el que solicita mayor número de determinaciones de Procalcitonina (37% del total), correspondiendo el 43% de éste a valores de Procalcitonina inferiores a 0,5. El coeficiente de asimetría para la Procalcitonina es de 20,04. Por otra parte, el análisis jerárquico utilizando la Procalcitonina produce 2 grandes agrupaciones que no se corresponden con la clasificación de riesgo utilizada en la práctica clínica. Sin embargo, el análisis detallado del dendrograma permite identificar combinaciones de subgrupos que sí se corresponden con la clasificación de riesgo, exceptuando únicamente los resultados de 2 pacientes.

### Conclusiones:

En la mayor parte de los pacientes incluidos en este estudio, los valores de Procalcitonina se corresponden al menos con un riesgo moderado de infección bacteriana. Por otra parte, se puede explicar la ausencia de casos de pacientes con valores elevados de Procalcitonina con PCR bajas por los servicios de procedencia de la mayoría de los pacientes. Mediante el software de libre distribución R es posible realizar Análisis de Clusters de forma sencilla y obtener agrupaciones de pacientes en función de los parámetros analizados que sean fácilmente identificables.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 212**

## TRATAMIENTO DE INCIVO® EN LA HEPATITIS C

*Autor/a/s: Ana Gracia Martínez, Ester Carabantes Gonzalez, Isabel Perez Fernandez, Marco Antonio Orbezo Cavani, Silvia Torralba Bernal*

*Centro de trabajo: Hospital UNIVERSITARIO DE LA VALL D'HEBRON. Localidad: BARCELONA*

*Correo electrónico del primer firmante: ANNAGRACIA@MSN.COM*

### 1. Introducción:

La hepatitis C es una enfermedad infecciosa causada por un virus pequeño con envoltura y una sola cadena de ARN(+) que pertenece a la familia Flaviviridae, que afecta al hígado. Su transmisión es vía parenteral. Las pruebas que se realizan para su detección son en un primer momento las transaminasas para ver si hay afectación en el hígado. Después se realizan pruebas más específicas para determinar la presencia de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C. También se puede complementar con una biopsia hepática o bien el marcador hepático de la alfa-fetoproteína que podría orientarnos en una sospecha de cáncer hepático.

En este trabajo nos centraremos en un nuevo tratamiento que complementa los tratamientos que ya se utilizaban. Se trata de un nuevo fármaco, con un alto porcentaje de curación del VHC, aproximadamente el 90% de los pacientes tratados con el nuevo fármaco eliminan la carga viral del virus por completo, no siendo así con los anteriores tratamientos.

### 2. Objetivo:

Nuestro objetivo es explicar el fármaco nuevo INCIVO®, que es, para que sirve y que pruebas de laboratorio se realizan para su seguimiento. El fármaco INCIVO® o telaprevir es un antiviral de acción directa, se trata de un inhibidor de la proteasa NS3/4<sup>a</sup> del virus de la hepatitis C (VHC). Su administración deberá realizarse en combinación con peginteron alfa y ribavirina (anteriores tratamientos). Telaprevir es un inhibidor de la proteasa del VHC, enzima esencial para la replicación del



VHC. El fármaco tiene un mecanismo dividido en dos etapas: produce un enlace covalente con la enzima, produciendo posteriormente una disociación lenta, y en la segunda etapa impide que la enzima catalice la formación de la poliproteína del VHC. La inhibición de la acción de la proteasa del VHC impide la replicación del virus dentro de las células infectadas del organismo hospedador.

### 3. Material y Métodos:

Telaprevir se administra por vía oral, mediante una dosis única. Su concentración es máxima al cabo de 4-5 horas. El fármaco se une a proteínas del plasma como la albumina. Se administra cada 8 horas, junto con la combinación de peginterferon alfa-2a y ribavirina, durante 12 semanas. Se deben medir los niveles de ARN-VHC en las semanas 4 y 12. Si durante esas semanas el VHC es indetectable se dan 12 semanas de tratamiento más pero solo de peginterferon alfa y ribavirina. Si es detectable los pacientes deben recibir otras 36 semanas adicionales de tratamiento también solo con peginterferon y ribavirina. En pacientes con cirrosis se recomienda un tratamiento de 48 semanas independientemente de si el ARN-VHC es detectable o no.

Telaprevir afecta al sistema hematológico y de coagulación, causando anemia. También provoca aumentos de AST y ALT, así como de colesterol y una disminución de la albumina. Por lo que también se tiene que ir realizando un seguimiento mediante analítica de los diferentes parámetros.

Antes de iniciar tratamiento con Incivo® realiza en todos los pacientes (recuento sanguíneo completo con fórmula leucocitaria, electrolitos, creatinina sérica, pruebas funcionales hepáticas, tirotropina, ácido úrico).

Se indican los valores basales recomendados para iniciar el tratamiento combinado;

- Hemoglobina:  $\geq 12\text{g/dl}$  (mujeres);  $\geq 13\text{g/dl}$  (varones)
- Recuento de plaquetas  $\geq 90.000/\text{mm}^3$
- Función tiroidea debidamente controlada (tirotropina)
- Aclaramiento de creatinina calculado  $\geq 50\text{ml/min}$
- Potasio  $\geq 3,5\text{ mmol/l}$

Se recomienda realizar hemogramas incluida la fórmula leucocitaria y evaluaciones bioquímicas (electrolitos, creatinina sérica, ácido úrico, enzimas hepáticas, bilirrubina, tirotropina) en las semanas 2, 4, 8 y 12

se deben medir los niveles de virus de la hepatitis C en las semanas 4 y 12

#### 4.Resultados

Puede provocar efectos adversos tales como;

- Exantema;
- El 90% de los casos son de intensidad leve o moderada, se describen como pruriginosos y eczematosos, el otro 10% son de intensidad grave (síndrome de Stevens-Johnson y síndrome DRESS)
- Anemia;
- En el 32,1% de los pacientes presentan anemias muchos de estos requieren tratamiento estimuladores de la eritropoyesis e incluso transfusiones los valores que pueden alcanzar con este tratamiento (Hemoglobina  $<7\text{g/dl}$ , recuento de plaquetas  $<25.000/\text{mm}^3$ , recuento absoluto de linfocitos  $<350/\text{mm}^3$ , potasio  $<2\text{mEq/l}$ )
- Signos y síntomas anorectales
- Hemorroides, molestias anorectales, prurito anal y ardor rectal

### 5. Conclusiones:

Se ha visto que el fármaco INCIVO® solo es efectivo para el genotipo 1 del virus. También es muy importante no abandonar el tratamiento ya que el virus se haría resistente a toda medicación actual, por tanto es preciso que se tenga muy controlada la bioquímica y hematología del paciente para evitar un abandono por una fuerte anemia. Si el tratamiento se hace correctamente y se controla la anemia que causa la medicación, después de los 6 meses que dura el tratamiento completo hay un 90% de probabilidades de que el paciente elimine la carga viral del VHC, cosa que no se daba con los anteriores tratamientos.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 213**

#### VALORACION DE LA HEMOLISIS EN MUESTRAS DE PROTEINOGRAMAS SERICOS

*Autor/a/s: MARIA CARMEN RICO SERRANO, CONXITA BOSCH GARROS, DOLORES ALEGRE SEGURA*

*Centro de trabajo: CATLAB. Localidad: VILADECAVALLS*

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

### Introducción:

La valoración visual del grado de hemólisis implica cierta subjetividad en la definición de "muestra hemolizada" para su aceptación para el análisis. La utilización del índice de hemólisis sérico determinado en los equipos de bioquímica asegura una detección fiable y sistemática. La mayoría de los estudios publicados sobre la significación de la hemólisis utilizan criterios de error sistemático o imprecisión deseable, basados en estudios de variabilidad biológica. La Sociedad Española de Química Clínica (SEQC) propone seguir las normas de International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) para determinar el valor del grado de hemólisis clínicamente significativo.

### Objetivo:

Evaluar la interferencia de la hemólisis en la medición de las distintas fracciones del proteinograma según los índices séricos de hemólisis, para estandarizar de una forma objetiva los comentarios en los informes de resultados de estas muestras.

### Material y Métodos:

Se añadieron cantidades crecientes de hemolizado a alícuotas de suero. Se determinó el índice sérico de cada alícuota por duplicado en el modular Cobas 711C (Roche) y se realizó el proteinograma de cada alícuota por electroforesis capilar, mediante el analizador Capillarys (Sebia). Se calculó el Coeficiente de Variación de cada fracción y se comparó con el coeficiente de variabilidad biológica.

### Resultados:

En la electroforesis capilar la hemoglobina migra en la fracción beta-1-globulina del proteinograma por lo que ésta es la principal fracción que se altera.

Según establecen las normas de la IUPAC, se considera una interferencia analítica clínicamente significativa si modifica el resultado en un valor superior a la mitad del coeficiente de variación biológico que en este caso corresponde al 5,05%.

La primera alícuota realizada, en orden de hemólisis creciente que tiene un Coeficiente de Variación de la fracción beta globulina que supera a la mitad del Coeficiente de Variación Biológico, corresponde a un índice sérico de hemólisis de 51. Teniendo en cuenta que la principal utilidad del proteinograma no es la exacta cuantificación de las fracciones sino la detección de perfiles proteicos anómalos, creemos que es correcto librar el informe incluso con un resultado del índice sérico de hemólisis superior a esta cifra pero incluyendo un comentario adicional.

### Conclusiones:

En la determinación de los proteinogramas por electroforesis capilar nos es de utilidad saber que la fracción de las beta-globulinas se altera con la hemólisis. A partir de un índice sérico de hemólisis de 51, esta alteración es clínicamente significativa. Mediante una regla CAR, el sistema informático podría introducir automáticamente el comentario de: "muestra hemolizada, incremento de la fracción betaglobulina". Con un valor de índice de hemólisis inferior a 51, no sería necesario poner ningún comentario.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 214**

#### ESTUDIO RESTROSPECTIVO DE LA HB-GLICOSILADA COMO CONTROL DE DIABETES

*Autor/a/s: Serrano Fernández María Inés; Navarro Plaza Ana Flor; Morales Solana Amalia; Tebar Salazar Julian; Lomas López, Francisca.*

*Centro de trabajo: HOSPITAL VIRGEN DE LA NIEVES. Localidad: GRANADA*

*Correo electrónico del primer firmante: ines82serrano@hotmail.com*

### Introducción:

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad metabólica que se caracteriza por elevados niveles de glucosa en sangre, secundaria a una alteración absoluta o relativa de la secreción de insulina y/o a una alteración de la acción de dicha hormona en los tejidos insulino-dependientes. La hemoglobina glicosilada (HbA1c) refleja la media de las concentraciones de glucemia en los últimos dos-tres meses en una sola medición, sin preparación previa ni ayuno. Es la prueba recomendada para el control de la DM.

## Objetivo:

El objetivo de este estudio es conocer la tasa de control de la DM a través de la determinación de la HbA1c por parte del laboratorio del Hospital Virgen de las Nieves en 4 Centros de Salud (CS) asociados al mismo, y valorar el posible exceso de determinaciones realizadas.

## Material y Métodos:

Se realizó un estudio retrospectivo de las solicitudes de HbA1c por parte de 4 CS de la capital de Granada: Almanjayar, Fortuny, Salvador Caballero y Realejo durante un periodo de 3 meses en pacientes diabéticos o en estudio. Las determinaciones de HbA1c se realizaron en el analizador ADAMS A1c HA-8160 (Menarini/ARKRAY) por HPLC de intercambio iónico. Se obtuvo una base de datos con todas las peticiones analizadas a través del SIL del laboratorio (OMEGA 3000) y la aplicación informática Omnium (Roche Diagnostics®). Los resultados de % de HbA1c los agrupamos como: DM bien controlada <7% y DM mal controlada ≥7%; dentro de las DM bien controladas hacemos distinción de las HbA1c ≤6% (posibles solicitudes no procedentes).

## Resultados:

De un total de 734 peticiones de HbA1c, 402 resultados son <7% y 332 son ≥7%.

	HbA1c		
CS	<7%	≥7%	Total
Almajayar	113 (45,2%)	137 (54,8%)	250
Fortuny	80 (63,5%)	46 (36,5%)	126
S.Caballero	106 (54,6%)	88 (45,4%)	194
Realejo	103 (62,8%)	61 (37,2%)	164
Total	402 (54,8%)	332 (45,2%)	734

De las 734 peticiones, 170 presentan una HbA1c ≤6%, lo que supone un 23% del total.

	HbA1c		
CS	≤6%		Total
Almajayar	40 (16%)		250
Fortuny	35 (28%)		126
S.Caballero	43 (22%)		194
Realejo	52 (32%)		164
Total	170 (23%)		734

## Conclusiones:

En nuestra ciudad, más de la mitad de los pacientes con HbA1c solicitada están bien controlados, y esta tasa es mayor en el CS de Fortuny, seguido de CS Realejo y CS Salvador Caballero. En el CS de Almanjayar se observa una mayor tasa de HbA1c ≥7% (diabéticos mal controlados). El hecho de que el porcentaje de peticiones con valores de HbA1c ≤6% sea mayor del 20%, sugiere un excelente control de la DM o bien la solicitud inapropiada de esta prueba en pacientes no diabéticos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 215

### INCIDENCIAS PREANALÍTICAS EN LA PRÁCTICA CON MPA-DIRAY

Autor/a/s: RIOS RAMOS MARIA JOSEFA; MONGE CAMACHO MARÍA DEL PATROCINIO, ARDILA LÓPEZ CATALINA

Centro de trabajo: HOSPITAL VIRGEN DE VALME DE SEVILLA. Localidad: SEVILLA

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

## Introducción:

Actualmente el 85% de las peticiones de análisis de Atención Primaria de nuestra Área Hospitalaria se realizan a través del Módulo de Pruebas Analíticas (MPA) de Diraya. Con la introducción de dicho módulo han disminuido considerablemente las incidencias de la fase preanalítica en cuanto a seguridad del paciente (volantes escritos a mano con letra ilegible, volantes con error en número de historia, volantes sin datos demográficos y/o pruebas...) ya que la petición se realiza desde la propia historia del paciente. Sin embargo, se han detectado un nuevo tipo de

incidencias derivadas de un uso inadecuado del MPA desde los distintos Centros de Salud.

## Objetivo:

Identificar los errores que se producen en el manejo del módulo MPA de Diraya en cada Centro de Salud, sus causas y consecuencias.

## Material y Métodos:

Se han revisado durante dos meses todas las incidencias de las peticiones que se recibieron a través de MPA. Las incidencias se clasificaron en distintos grupos dentro de cada Centro de Salud para su posterior notificación y formación del personal implicado.

## Resultados:

Las incidencias se agruparon en 5 bloques:

1. No extracción: Se realiza la extracción física de los tubos, pero en MPA Diraya no se notifica el número de muestra que corresponde a dicha petición (8%)
2. No asignación del laboratorio receptor (1%)
3. La petición no se encuentra en el estado de "pendiente de extracción": es frecuente que se utilice el mismo volante de petición para extracciones distintas (2%)
4. En transporte "no válida". No hay concordancia entre los datos de BDU y los preexistentes en nuestro SIL (4%)
5. Incidencias evitables:
  - 5.1. N° muestra=N° petición: se escanea el número de la petición en el lugar designado para el código de muestra
  - 5.2. N° muestra con más o menos dígitos
  - 5.3. Errores al teclear los dígitos
  - 5.4. Cruce de pacientes: asignación a un paciente de número de muestra que corresponde a otro
  - 5.5. Reetiquetado de volantes
  - 5.6. Volantes sin código de barras

El bloque 5 supone las incidencias más frecuentes, alrededor del 85%, y son a su vez las que más implican a la seguridad del paciente.

Con estos datos se visitó cada Centro de Salud, explicándoles los errores, sus causas y las consecuencias reales que éstos tenían y recibiendo un segundo ciclo de formación sobre el manejo del MPA.

## Conclusiones:

Un vez dada la formación en los distintos Centros de Salud, el número de incidencias se ha reducido del 6 al 1%, y la mayoría de ellas, si no ha podido solucionarse, son notificadas al Laboratorio telefónicamente en el momento de la extracción desde cada Centro de Salud, lo que demuestra un aumento de interés y responsabilidad al conocer las consecuencias de los errores.

Muchos de los errores pensamos que son debidos a la dificultad de utilización del MPA según el protocolo establecido en el momento de la extracción, posiblemente motivado por la organización propia de cada centro y por la presión asistencial existente.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 219

### COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE NIVELES SÉRICOS DE CROMOGRANINA A

Autor/a/s: Montero Rodríguez Luis Alberto, Ortiz Fernández Isabel, Juan Carlos Castillo Rosa, María Herrero Berrocal, Sandra Lluva Galán, Mª Cruz Gaitero Rodríguez, Carolina Martínez Chincolla, R Ángeles Silvestre Mardomingo.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Puerta de Hierro. Localidad: Majadahonda, Madrid

Correo electrónico del primer firmante: ludwigvonmontero@hotmail.com

## Introducción:

La cromogranina A (CgA) pertenece a una familia de proteínas (las graninas) de naturaleza ácida, inicialmente identificada en las células cromafines de la médula adrenal. Posteriormente se demostró que las cromograninas constituyen el componente mayoritario de los gránulos secretorios de la mayoría de las células

neurosecretores y están presentes en el plasma periférico. Los niveles séricos/plasmáticos de CgA están elevados en los tumores derivados de células neuroendocrinas, entre otros en tumores carcinoides, feocromocitomas, neuroblastomas, tumores gastro-pancreáticos, síndromes MEN1 y MEN2. La determinación de los niveles circulantes de CgA se ha incluido en el diagnóstico primario y en el seguimiento de estos tumores, especialmente en los tumores no secretores ya que sus niveles plasmáticos/séricos correlacionan inversamente con el grado de diferenciación del tumor. Para la cuantificación de CgA se han desarrollado varios inmunoensayos (RIA y enzoinmunoensayo) que utilizan anticuerpos monoclonales o policlonales. La CgA es una molécula muy estable (a temperatura ambiente y a 37°C), no se necesitan precauciones especiales para su determinación y soporta congelaciones y descongelaciones repetidas. Sin embargo, la heterogeneidad de las formas moleculares presentes en el plasma/suero dificulta la estandarización de estos métodos ya que se han descrito en algunas metodologías reacciones cruzadas con los péptidos resultantes de su degradación, lo que implica diferentes intervalos de referencia en las distintas metodologías descritas por lo que los resultados no son transferibles. Esto puede inducir a errores en los estudios multicéntricos y en la evaluación de estudios retrospectivos y obliga a que los estudios de seguimiento se realicen con la misma metodología.

### Objetivos:

Comparación de dos métodos inmunométricos para la detección y cuantificación de CgA, un ensayo inmunoabsorbente vinculado con enzimas (ELISA, Neolisa, Euro Diagnostica) que utiliza un anticuerpo monoclonal y un ensayo sándwich de inmunofluorescencia basado en la tecnología TRACE (Kryptor Compact Plus, Thermo Scientific).

### Material y Métodos:

Se analizaron 60 sueros de pacientes del Hospital Puerta de Hierro de Majadahonda en los que se determinaron los niveles de CgA siguiendo la técnica habitual de nuestro laboratorio (ELISA). Estas muestras se analizaron paralelamente en el Kryptor Compact Plus, Thermo Scientific que utiliza tecnología TRACE que mide la señal que es emitida desde un inmunocomplejo con retardo de tiempo. El método se basa en la transferencia de energía no radiante desde un donante (criptato) hasta un aceptante (XL665). La proximidad del donante y el aceptante cuando son parte de un inmunocomplejo y el solapamiento espectral entre la emisión del donante y la absorción del aceptante intensifican la señal fluorescente de citrato y además extienden la duración de la señal del aceptante, permitiendo la medición de fluorescencia retardada temporalmente. El estudio estadístico de los resultados se realizó mediante SPSS. Valores de referencia en ambos ensayos: ELISA: <4 nmol/l; KRYPTOR: <84,7 ng/ml.

### Resultados:

Las concentraciones de CgA determinadas por ambos métodos mostraron una correlación estadísticamente significativa: Rho de Spearman: 0.8;  $p < 0.01$ . Correlación de Pearson: 0.8;  $p < 0.01$ . La correlación es mejor en valores más bajos de CgA, tanto para valores séricos bajos, normales y patológicos por debajo de 600 mg/ml (muy por encima del rango de normalidad establecido para este parámetro: 84,7 ng/ml).

### Conclusiones:

Se ha demostrado una buena correlación entre las concentraciones determinadas por ambos métodos analíticos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 220

### VALORACIÓN DE LA MONITORIZACIÓN DE METOTREXATO (MXT) A DOSIS ALTAS TRAS EL RESCATE CON LEUCOVORIN.

Autor/a/s: Martín Vega, José Valerio. Bolaños del Rosario, María del Carmen

Centro de trabajo: Hospital Universitario de Gran Canaria. Dr. Negrín. Localidad: Las Palmas de Gran Canaria.

Correo electrónico del primer firmante: valmaveg@gmail.com

### Resumen:

El Metotrexato (MTX) es un antagonista del ácido fólico, que posee actividad antiproliferativa e inmunosupresora por inhibir competitivamente a la enzima dihidrofolato reductasa (DFR), enzima clave en el metabolismo del ácido fólico que regula la cantidad de folato intracelular disponible para la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos. Impide la formación de tetrahidrofolato necesario para la síntesis

de ácidos nucleicos. Es un medicamento empleado como citostático para tratar determinados tipos de neoplasias, incluyendo la leucemia, sarcoma osteogénico o los linfomas no Hodgkins; y que a dosis altas es utilizado en estos pacientes oncohematológicos, conjuntamente con Leucovorín como terapia de rescate.

### Objetivos:

Valorar la adecuada monitorización de MXT, en pacientes de oncohematología, tratados con dosis altas de MXT y posterior rescate con leucovorín.

### Material y Método:

Determinación de MXT post protocolo. Según las pautas siguientes: 24 h de perfusión I.V. estableciendo el 15% en 1 h y el 85% durante 23 h restante. Continuando luego con la administración de leucovorín 50 mg cada 6 h por 10 dosis durante 24 h. Se obtiene muestra basal, a mitad y final del tto. hasta niveles indetectables.

Se emplea el método del inmunoanálisis de polarización de la fluorescencia (FPIA) en un equipo TDX de ABBOTT Laboratories, para la medición del metotrexato.

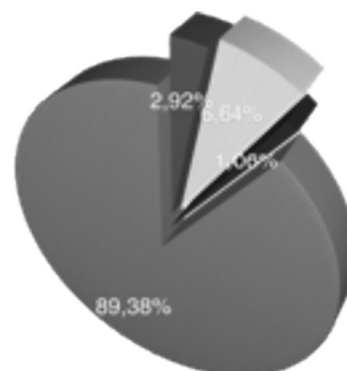
### Resultados:

Tras los análisis de 376 muestras de un total de 47 pacientes entre los años 2007-2013 obtenemos los siguientes resultados.

- A Solicitud previa con valores <0,1 µmol/l ..... 11 muestras 2,92%
- B Solicitud antes del tiempo establecido del protocolo ..... 25 muestras 6,64%
- C Muestras no remitidas (interrupción del protocolo) ..... 4 muestras. 1,06%
- D Muestras adecuadas en tiempo ..... 336 muestras 89,38%

### Conclusiones:

Se objetiva que el 89,38% de muestras recibidas para monitorización de MTX cumple el protocolo establecido. Existe un pequeño porcentaje de muestras (10,62%) que se solicita fuera de protocolo, por lo que la participación activa del laboratorio ayuda informando al clínico para mejorar la eficiencia y rentabilizar los recursos disponibles.



Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 233

### DETECCIÓN DE LA DIABETES GESTACIONAL A TRAVÉS DEL O'SULLIVAN POSITIVO

Autor/a/s: De la Hiz Marroquí, Dolores; Jimenez Aranda Amparo; Fernández Castillo Purificación; Serrano Fernández Antonio José.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Localidad: Granada

Correo electrónico del primer firmante: patricia82fernandez@hotmail.com

### Introducción:

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 2012 y enero 2013), 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 - ORAL*

**Número: 234**

### DETECCIÓN DE NIVELES DE FITOESTRÓGENOS (GENISTEÍNA Y DAIDZEÍNA) EN MUESTRAS BIOLÓGICAS HUMANAS MEDIANTE UPLC

*Autor/a/s: Boada Llamas Cristina, Artaza Marino María Angeles, Giralt Casellas Dolors, Montaner Villalonga Joan*

*Centro de trabajo: Institut de Recerca del Vall d'Hebron. Localidad: Barcelona*

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

## Introducción:

Los fitoestrógenos son compuestos no esteroideos, que pueden comportarse como agonistas o antagonistas de los estrógenos. Proceden de las plantas a diferencia de los estrógenos que son de origen animal. Los principales fitoestrógenos con importancia en nutrición y que pueden tener relevancia sobre la salud humana son las isoflavonas, los lignanos y los cumestanos. Las isoflavonas son las más importantes y se encuentran en una variedad de plantas, incluyendo frutas y vegetales, aunque es la soja la que presenta las más altas concentraciones, en las formas de glicósidos, genistina, daidzeína y glicitina.

Estos componentes se han investigado en diversos estudios como en el Framingham en mujeres posmenopáusicas, donde se relacionó la ingesta de fitoestrógenos (isoflavonas y lignanos) con un perfil metabólico favorable de menor riesgo cardiovascular. En otro proyecto "European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition" (EPIC), se demostró que niveles elevados de genisteína tienen un efecto protector sobre el cáncer de mama. Diversos estudios también han relacionado los niveles de fitoestrógenos con neuroprotección en enfermedades neurovasculares.

En muchos de estos estudios se realizan determinaciones indirectas de los niveles de fitoestrógenos mediante tablas que indican los niveles según las dietas de los sujetos. Aunque la determinación rutinaria de estos componentes en plasma ha sido una limitación en los últimos años, existen varias técnicas para determinarlas (modificaciones de high performance liquid chromatography, HPLC) e incluso algunos grupos están desarrollando técnicas de ELISA para su detección. La ultra-performance liquid chromatography (UPLC) es una técnica que permite determinar con gran precisión varias de estas moléculas y podemos considerarla una de las técnicas de elección en la actualidad.

## Objetivos:

El objetivo de este trabajo ha sido poner a punto la detección y cuantificación de los fitoestrógenos (Daidzeína y Genisteína) en muestras de suero humano para poder medirlo de manera generalizada. Como objetivo secundario analizaremos los niveles de estas moléculas en una población control sana y en pacientes que han sufrido un ictus isquémico.

## Material y Métodos:

El proyecto se realizó con muestras de suero de 15 controles sanos y 15 pacientes de ictus isquémico apareados por edad y sexo.

Tratamos las muestras con un tampón de hidrólisis y pasamos las muestras por las columnas de cromatografía para poder concentrar estos componentes y eliminar ruido de fondo.

Tras su elución, resuspendimos las muestras en el tampón adecuado para pasar por el UPLC.

El análisis de las muestras se realizó mediante un sistema automatizado LC-MS/MS.

Se usaron dos controles, que se pasaban junto a las muestras, para ver la variabilidad de la técnica entre diferentes días.

Se cuantificó mediante una curva de estándares de genisteína y daidzeína.

## Resultados:

Mediante esta técnica pudimos detectar los valores en suero tanto de genisteína como de daidzeína de nuestras muestras de pacientes y controles. Los valores medios que obtuvimos fueron de 15,59 ng/ml y 46,84 ng/ml de daidzeína y genisteína respectivamente para las muestras de controles; y de 16,31ng/ml y 45,94ng/ml de daidzeína y genisteína respectivamente para las muestras de pacientes.

Los controles internos pasados diferentes días dieron muy poca variabilidad.

Comparando entre controles y pacientes de ictus isquémico, observamos que no había diferencias en los niveles de la concentración de daidzeína y genisteína. Y realizando un estudio dentro de los pacientes, se observó que había una relación entre mayores niveles de daidzeína y la cardiopatía isquémica, que es un factor de riesgo en el ictus isquémico.

## Conclusiones:

La técnica presenta unos coeficientes de variación muy pequeños en los controles que hemos analizado los diferentes días, lo que la convierte en una técnica reproducible

Mediante esta técnica se ha conseguido protocolizar la detección y cuantificación de los fitoestrógenos daidzeína y genisteína en muestras de suero humano. Esto nos permitirá poder cuantificar las moléculas en futuros estudios y poder establecer valores de referencia que nos permitan utilizar estas moléculas como biomarcadores en enfermedades cardiovasculares, neurovasculares y cáncer.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 241**

### COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE NIVELES SÉRICOS DE ANTICUERPOS ANTIRECEPTOR DE HORMONA ESTIMULADORA DE TIROIDES.

*Autor/a/s: Montero Rodríguez Luis Alberto, Ortiz Fernández Isabel, Elorza Méndez Silvia, Pulido Letrán Ignacio, Arribas Herrero. Beatriz, Castillo Rosa Juan Carlos*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario Puerta de Hierro. Localidad: Majadahonda, Madrid*

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

## Introducción:

La disfunción tiroidea puede presentar un cuadro clínico variable. Niveles bajos o no detectables de TSH (hormona estimuladora de tiroides) son un signo diagnóstico para el hipertiroidismo y pueden encontrarse en pacientes con enfermedad de Graves (la causa más común de hipertiroidismo), bocio multinodular tóxico, adenoma tóxico y tiroiditis subaguda. El hipertiroidismo en la enfermedad de Graves se atribuye a la presencia en el suero de autoanticuerpos hacia el receptor de TSH (TSI, "Thyroid Stimulating Immunoglobulins") con capacidad para unirse al receptor y activarlo. Por tanto, en estos pacientes, la determinación de los niveles circulantes de estos autoanticuerpos TSI puede ayudar en su diagnóstico y seguimiento.



## Objetivos:

Comparación de dos métodos inmunométricos para la detección y cuantificación de anticuerpos contra el receptor de TSH en suero humano: Un ensayo enzimático (ELISA) para la medición cuantitativa de TSI (IMTEC-TSH Receptor Antibodies TRAb) y un ensayo sándwich de inmunofluorescencia basado en la tecnología TRACE (Kryptor Compact Plus, Thermo Scientific).

## Material y Métodos:

Se analizaron 41 sueros de pacientes del Hospital Puerta de Hierro de Majadahonda en los que se determinaron los niveles de TSI siguiendo la técnica habitual de nuestro laboratorio (ELISA). Estas muestras se analizaron paralelamente en el Kryptor Compact Plus, Thermo Scientific que utiliza tecnología TRACE que mide la señal que es emitida desde un inmunocomplejo con retardo de tiempo. El método se basa en la transferencia de energía no radiante desde un donante (criptato) hasta un aceptante (XL665). La proximidad del donante y el aceptante cuando son parte de un inmunocomplejo y el solapamiento espectral entre la emisión del donante y la absorción del aceptante intensifican la señal fluorescente de citrato y además extienden la duración de la señal del aceptante, permitiendo la medición de fluorescencia retardada temporalmente. El estudio estadístico de los resultados se realizó mediante SPSS. Valores de referencia en ambos ensayos: ELISA: 1.8 UI/L; KRYPTOR: < 1.8 IU/L.

## Resultados:

Las concentraciones de TSI determinadas por ambos métodos mostraron una correlación estadísticamente significativa: Rho de Spearman: 0.8;  $p < 0.01$ . Correlación de Pearson: 0.7;  $p < 0.01$  aunque las concentraciones de TSI obtenidos en el KRYPTOR mostraron una tendencia a estar ligeramente por encima de los resultados obtenidos en el ELISA.

## Conclusiones:

Se ha demostrado una correlación aceptable entre las concentraciones determinadas por ambos métodos analíticos. La automatización que ofrece el KRYPTOR Compact Plus supone una ventaja analítica a tener en consideración.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 244**

### FOSFATASA ALCALINA OSEA VS FOSFATASA ALCALINA TOTAL: UTILIDAD Y EFICACIA

*Autor/a/s: FERNANDEZ MARTINEZ, MARIA MERCEDES ; SASTRE GARROTE ANA MARIA ; ROMERO GARCIA, PAULA ; CASADO HERNANDEZ, MARIA DEL CARMEN; HERNANDEZ CERCEÑO, MARIA LUISA.*

*Centro de trabajo: HOSPITAL CLINICO UNIVERSITARIO DE SALAMANCA. Localidad: SALAMANCA*

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

## Introducción:

La FAO es uno de los isoenzimas de la fosfatasa alcalina que, junto con la hepática, intestinal y placentaria, forman la ALP total. Se eleva en la infancia y adolescencia por el crecimiento, suponiendo del 70 al 90% de la total. Se utiliza normalmente para monitorizar el incremento del remodelado óseo durante la postmenopausa.

## Objetivo:

Valorar la utilidad de la FAO frente a la ALP en las diferentes etapas de la vida humana.

## Material y Métodos::

Se estudiaron 262 pacientes procedentes de las consultas del Hospital Clínico de Salamanca que no presentan patologías óseas y aquellas que elevan la fosfatasa alcalina, llegados al laboratorio durante el 2012.

Se distribuyeron en los siguientes grupos:

Grupo 0 : 58 niños/as hasta 11 años

Grupo 1: 24 varones adolescentes (de 12 a 21 años)

Grupo 2: 50 mujeres adolescentes ( de 12 a 21 años)

Grupo 3: 87 varones/mujeres ( de 22 a 47) grupo control

Grupo 4: 22 varones mayores de 48 años.

Grupo 5: 22 mujeres mayores de 48 años.

Se realizaron las pruebas bioquímicas rutinarias con perfil hepático, que incluye ALP, en el sistema COBAS 8000 (ROCHE), y la FAO se determinó mediante ensayo inmunoenzimático de ids ( VITRO diagnósticos). Los dos parámetros medidos en U/L.

El análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS 15.0

## Resultados:

Se realizaron pruebas de normalidad (Kolmogorov-Smirnov) obteniendo una población de distribución no normal, calculamos medianas y percentiles 5, 95 para FAO y ALP en cada uno de los 6 grupos.

Aplicamos la prueba de Mann-Whitney como estadístico de contraste, obteniendo los siguientes resultados.

Diferencias significativas entre el grupo 0 y el grupo control para FAO ( $p < 0.000$ ) y ALP

( $p < 0.000$ ) y para la relación ALP/FAO ( $p < 0.000$ )

Entre el grupo 1 y el control se encontraron diferencias significativas para FAO ( $p < 0.000$ ) y ALP ( $p < 0.000$ ) y para la relación ALP/FAO ( $p < 0.000$ ).

Entre el grupo 2 y el control se encontraron diferencias significativas para FAO ( $p < 0.000$ ) y para la relación ALP/FAO ( $p < 0.000$ ) pero no para ALP ( $p = 0.063$ )

Entre el grupo 4 y el control se encontraron diferencias significativas para FAO ( $p < 0.000$ ) y ALP ( $p < 0.000$ ) mientras que no era significativa para la relación ALP/FAO ( $p = 0.462$ ).

Entre el grupo 5 y el control se encontraron diferencias significativas para FAO ( $p < 0.006$ ) y ALP ( $p < 0.002$ ) mientras que no era significativa para la relación ALP/FAO ( $p = 0.768$ ).

## Conclusiones:

Los resultados obtenidos nos indican que la determinación de FAO es útil para los grupos 0, 1 y 2 en los que no sólo los niveles de FAO son significativos sino también la relación entre ALP y FAO con respecto al control, mientras que en los grupos 4 y 5 vemos que aunque la FAO y la ALP son significativas con respecto al control no lo es su relación, de lo cual deducimos que las alteraciones son similares y en estos casos la FAO, podría ser sustituida por ALP de ejecución más rápida y menor coste. La determinación de FAO se realizaría, en el diagnóstico diferencial de aquellos pacientes que tuvieran patología ósea y elevaciones de ALP de origen no óseo.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 246**

### MATRIZ METALOPROTEINASA-2 Y -9 EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

*Autor/a/s: Sonia Saraiva1, João Figueiredo2, Ana Valado1, Artur Paiva1, Nadia Osório1, Fernando Mendes1, Armando Caseiro1 y António Gabriel1*

*Centro de trabajo:*

*1-Departamento de Análises Clínicas e Saúde Pública, Coimbra Health School, Instituto Politécnico de Coimbra. 2-Departamento de Ciências Complementares, Coimbra Health School, Instituto Politécnico de Coimbra. Localidad: Coimbra*

*Dirección del primer firmante: Escola Superior de Tecnologia da Saude de Coimbra Rua 5 de Outubro*

*Correo electrónico del primer firmante: fjmendes@estescoimbra.pt*

## Introducción:

La enfermedad de Alzheimer (AD) es un problema creciente de salud pública, se estima que en 2050 unos 80 millones de personas sufren de Alzheimer necesitando de una intervención precoz.

El diagnóstico definitivo sólo es posible después de la muerte, con la confirmación de las características histopatológicas (ovillos neurofibrilares y placas seniles) en la autopsia.

Algunos estudios apuntan que en el cerebro de un paciente con AD es inherente a un proceso inflamatorio. En respuesta a esta inflamación es inducida a producir metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMPs). De éstas, las gelatinasas (MMP-2 y MMP-9) son aquellos que están conectados a la degradación de secuencias proteolíticas relacionadas con la péptido  $\beta$ -amiloide (Ab) en AD.

### Objetivo:

Evaluar los niveles de MMP-2 y MMP-9 y su actividad proteolítica en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes con deterioro cognitivo leve (DCL), AD y FTD (demencia frontotemporal).

### Material y Métodos:

Se estudiaron 48 muestras de LCR de DCL, AD y FTD para los niveles de MMP-2 y MMP-9 a través de slot blot, y su actividad proteolítica determinados por zymography.

### Resultados:

Se encontró que los niveles de MMP-2 y MMP 9-estaban elevados en los pacientes de FTD en comparación con los pacientes de MCI y DA. Para la actividad proteolítica de la MMP-2, no hubo diferencias entre los grupos. En cuanto a la actividad proteolítica de la MMP-9, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con MCI y FTD.

### Discusión / Conclusión:

Los niveles elevados de MMPs en individuos de DFT se puede explicar mediante la alteración de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica. Las diferencias observadas con respecto a la actividad proteolítica de la MMP-9, y entre individuos de DCL DFT puede ser debido a una etiología diferente de las patologías. Los valores tendían elevados en pacientes DCL en comparación con los pacientes AD puede reflejar una menor activación de las MMPs como consecuencia de la reducción de la producción de citocinas antes de una condición inflamatoria persistente que caracteriza AD.

### Palabras clave:

Enfermedad de Alzheimer, deterioro cognitivo leve, demencia Frontotemporal, metaloproteinasas de matriz

diabéticos sin complicaciones. La actividad caseinolítica en la saliva resultó ser mayor en los pacientes.

### Conclusión:

Los niveles séricos de MMP-1 fueron menores en la presencia de complicaciones crónicas. Fue detectable actividad de algunas proteasas en la saliva, que no desarrolló actividad en el suero. La saliva se presenta como un fluido biológico con potencial en el diagnóstico clínico.

### Palabra clave:

Diabetes mellitus, metaloproteinasas de la matriz-1, nefropatía, retinopatía

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 247

## EVALUACIÓN DE LA METALOPROTEINASA DE LA MATRIZ-1 EN PACIENTES CON COMPLICACIONES CRÓNICAS DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 1

*Autor/a/s: Ana Coito<sup>1</sup>, Cláudio Quintaneiro<sup>2</sup>, Rosário Marinheiro<sup>2</sup>, Amélia Pereira<sup>2</sup>, Nádia Osório<sup>1</sup>, Fernando Mendes<sup>1</sup>, Ana Valado<sup>1</sup>, António Gabriel<sup>1</sup> e Armando Caseiro<sup>1</sup>*

*Centro de trabajo: 1 Departamento de Análisis Clínicos y de Salud Pública; Coimbra Health School, Portugal, 2 Servicio de Medicina Interna del Hospital de Distrito de Figueira da Foz. Localidad: Coimbra*

*Dirección del primer firmante: Escola Superior de Tecnologia da Saude de Coimbra Rua 5 de Outubro*

*Correo electrónico del primer firmante: fjmendes@estescoimbra.pt*

### Introducción:

La diabetes mellitus tipo 1 es una enfermedad metabólica que afecta a millones de personas. Con la progresión de la enfermedad, estos pacientes son más propensos a sufrir enfermedad isquémica, nefropatía e retinopatía. Las metaloproteinasas de la matriz son enzimas proteolíticas responsables de la remodelación de la matriz extracelular, en diferentes situaciones fisiológicas y patológicas. En condiciones fisiológicas, la metaloproteinasa de la matriz-1 (MMP-1) se expresa en niveles bajos, puede cambiar su expresión en situaciones patológicas.

### Objetivo:

Evaluar la actividad proteolítica de la MMP-1 en pacientes con diabetes tipo 1 y en individuos sanos, en la saliva y sangre periférica.

### Material y Métodos:

La población de estudio consistió de 38 sujetos divididos en cuatro grupos: 5 con retinopatía y nefropatía diabética, 7 diabéticos con retinopatía, 5 pacientes diabéticos sin complicaciones crónicas y 14 individuos sanos como grupo control. Los niveles de MMP-1 se evaluaron por slot blot y la determinación de la actividad proteolítica se llevó a cabo por la zimografía de caseína.

### Resultados:

La concentración en suero de MMP-1 fue menor en la presencia de complicaciones crónicas. En la saliva, la concentración de MMP-1 aumentó en los pacientes

# GENÉTICA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 006

## CASO CLÍNICO: ESTUDIO GENÉTICO PRENATAL DE SÍNDROME DE KLINEFELTER

Autor/a/s: Inmaculada Delgado Salazar, Josefa Gil Valencia, Carmen Amezcua Molero, María José Álvarez Martín

Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Localidad: Granada

Correo electrónico del primer firmante: macu\_ds@hotmail.com

### Introducción:

El Síndrome de Klinefelter (SK) es una forma de hipogonadismo masculino debido a esclerosis testicular con atrofia y azoospermia, ginecomastia y tasa elevada de gonadotropinas. Es debido a una anomalía numérica de los cromosomas sexuales, su incidencia es de 1 de cada 1000 varones nacidos.

El defecto genético es debido a la presencia de un cromosoma X extra, la mayoría de ellos tienen un cariotipo 47, XXY. Se debe a errores en la meiosis I paterna en la mitad de los casos, y el resto a errores en la meiosis I o II materna.

Aparecen como fenómenos aislados, sin aparentes factores de predisposición, excepto la edad avanzada de la madre.

### Caso clínico

Paciente de 35 años, embarazada, FUR: 10/07/2012

Datos bioquímicos 1º trimestre: edad gestacional 10s+1d

βHCG libre: 28.7 ng/mL

PAPP-A: 137.80 mU/L

Ante estos resultados presenta un riesgo elevado de trisomía 21, y riesgo bajo de trisomía 18. Por lo que se deriva al Servicio de Ginecología y Obstetricia de nuestro hospital para la realización de ecografía. Datos ecográficos 1º trimestre: edad gestacional 14s+4d. Resultados normales en la ecografía, tan solo destaca una TN 3.0 mm.

Se indica procedimiento invasivo al presentar un riesgo combinado elevado. Se realiza amniocentesis y se recibe la muestra en la sección de Genética Molecular. Se realiza amplificación mediante QF-PCR (PCR-Cuantitativa Fluorescente) y posterior Electroforesis Capilar, de secuencias de DNA altamente polimórficas, microsatélites. Y se analiza la electroforesis mediante el software ABI PRISM 310 Genetic Analyzer.

### Resultados:

En el estudio de este líquido amniótico se amplificaron 7 marcadores microsatélites específicos del cromosoma X, 3 marcadores específicos del cromosoma Y y 2 marcadores comunes a ambos cromosomas sexuales. Tras el análisis conjunto de estos 12 marcadores microsatélites se confirmó la presencia de 2 cromosomas X y 1 cromosoma Y y por tanto el diagnóstico de SK.

Se realiza cariotipo y se confirma la presencia del Síndrome de Klinefelter en la muestra analizada.

### Conclusión:

Mediante la QF-PCR (PCR-Cuantitativa Fluorescente) se amplifican secuencias microsatélites altamente polimórficas pertenecientes a los cromosomas 13, 18, 21, X e Y. La característica principal de esta PCR es que es capaz de cuantificar la dosis génica de estos marcadores, lo que posibilita la detección de aneuploidías en los cromosomas analizados con un coste menor que la realización del cariotipo y en menos de 48h desde la recepción de la muestra, lo que es de vital importancia por el escaso tiempo del que se dispone desde la semana en que se realiza la punción y el límite legal para la interrupción del embarazo (semana 22 de gestación).

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 012

## ANÁLISIS DE BIOMARCADORES EN PACIENTES CON CÁNCER COLORRECTAL METASTÁSICO

Autor/a/s: Robles Solano, Maitane; Gil Galochino, M<sup>a</sup> Carmen y Viedma Beltrán, Adriana

Centro de trabajo: Clínica Universidad de Navarra. Localidad: PAMPLONA

Correo electrónico del primer firmante: maiobles@unav.es

### Antecedentes:

Las terapias antitumorales basadas en el uso de anticuerpos (Ac) anti-EGFR van encaminadas a detener la cascada de señalización del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), que favorece el crecimiento tumoral. La señal se transmite desde el receptor EGFR, en la membrana celular, hasta el núcleo a través de la activación escalonada de diferentes moléculas transmisoras de la señal, entre ellas, y por orden de actuación, K-RAS, B-RAF, N-RAS y PI3K. Se ha demostrado que la presencia, en el tejido tumoral, de mutaciones activadoras en estas proteínas conlleva resistencia a tratamiento basado en Ac anti-EGFR, Cetuximab o Panitumumab.

### Objetivo:

En este trabajo se analizan muestras procedentes de 25 pacientes diagnosticados de carcinoma colorrectal metastásico (CCRM), con el fin de identificar biomarcadores que definan su respuesta al tratamiento con Ac monoclonales frente a EGFR.

### Material y métodos:

En ADN extraído de biopsia tumoral con el kit NucleoSpin Tissue (Macherey-Nagel) se analizan las 8 mutaciones más prevalentes de los codones 12 y 13 del gen KRAS mediante PCR tiempo real con Therascreen KRAS PCR (EU IVD Directive 98/79/EC). Esta técnica permite el análisis cuantitativo y cualitativo de secuencias de ADN, detectando hasta un 1% de ADN mutado sobre un fondo de ADN nativo.

En caso de K-RAS nativo, sin mutación, se procede al estudio del resto de los genes (B-RAF, N-RAS y PI3K) mediante pirosecuenciación: B-RAF (kit Therascreen BRAF Pyro Kit [EU IVD Directive 98/79/EC]); N-RAS (Kit de pirosecuenciación Therascreen NRAS Pyro Kit [EU IVD Directive 98/79/EC]) y PI3K (desarrollo propio). La pirosecuenciación permite el análisis cualitativo y cuantitativo de secuencias de ADN y consiste en una variante de la secuenciación en la que, por cada dNTP hibridado se libera un pirofosfato en cantidad equimolar a la cantidad de nucleótido incorporado, el pirofosfato se transforma en ATP que, tras varias reacciones enzimáticas, proporcionará una señal en forma de luz.

### Resultados:

Un 68% de los pacientes presentaban todos los biomarcadores nativos, no mutados, mientras que el 20 % presentaba mutación en K-RAS y 12% en N-RAS.

Los resultados preliminares obtenidos indican que cerca de 70% de los pacientes analizados se van a beneficiar del tratamiento con Ac anti-EGFR y que el estudio de otros biomarcadores de la misma vía permite identificar entre 10-15% de pacientes que recibirían tratamiento de analizarse únicamente K-RAS pero en quienes el tratamiento no sería eficaz.

### Conclusiones:

Se analizan los resultados para cada gen de cada uno de los 25 pacientes de CCRM, facilitando al oncólogo un resultado que le permitirá decidir el régimen terapéutico más adecuado a los biomarcadores identificados, optimizando así los recursos sanitarios y evitando tratamientos tóxicos, no eficaces y con efectos secundarios relevantes.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 015

## ESTUDIO ANUAL DE MARCADORES GENÉTICOS EN LA ENFERMEDAD CELIACA EN EL ÁREA SANITARIA DE LUGO.

Autor/a/s: LOPEZ LOPEZ, MARIA ISABEL; LOPEZ VILA, MARI FE; RODIL FERREIRO, REBECCA; FORMOSO LAVANDEIRA, DOLORES; GOY LOPEZ, MARIA CARMEN; CABO DEL RIEGO, JULIA

Centro de trabajo: Hospital Universitario Lucus Augusti . Localidad: Lugo

Correo electrónico del primer firmante: sabela927@hotmail.com

### Introducción y Objetivos:

La Enfermedad Celíaca (EC) es una enfermedad que afecta al intestino de niños y adultos genéticamente predispuestos, producida por la ingestión de alimentos

que contienen gluten. Lo que sugiere esta predisposición genética es la asociación de EC con los HLA haplotipos DQ2 y DQ8, 95 % DQ2 y el resto (aprox. 5%) DQ8. Dado la alta incidencia de esta enfermedad en nuestra área, las peticiones de marcadores genéticos aumentan cada año, y se viene observando, que la distribución de haplotipos es notablemente diferente, con una incidencia de HLA DQ8 muy superior a la publicada

Nuestro objetivo consiste en investigar los siguientes aspectos:

Incidencia de HLA DQ2 negativo con DQ8 positivo

Incidencia de HLA DQ8 en nuestra área

Incidencia de ambos heterodímeros positivos.

Distribución de haplotipos en nuestra población

### Material y métodos:

Estudiamos los resultados obtenidos en nuestro laboratorio durante el pasado año 2012. Las pruebas se realizan a enfermos celíacos diagnosticados por serología y confirmados con biopsia y estudio de familiares de primer grado. El test se realiza por hibridación molecular (PCR) en sangre total determinando todos los heterodímeros asociados.

### Resultados:

Los resultados se presentan en la siguiente tabla:

RESULTADOS POR HAPLOTIPOS 2012			Recuento	% columna
HLA DQ2	DQA1*0501	No se detecta	25	36.2 %
		Positivo	44	63.8 %
		Total	69	100 %
	DQB1*0201	No se detecta	18	26.1%
		Positivo	51	73.9 %
		Total	69	100 %
HLA DQ8	DQA1*0301	No se detecta	52	75.4%
		Positivo	17	24.6 %
		Total	69	100 %
	DQB1*0302	No se detecta	58	84.1 %
		Positivo	11	15.9 %
		Total	69	100 %

Se han establecido los porcentajes cruzados de ambos haplotipos, obteniendo los siguientes datos:

Del total de homocigotos en DQ2 (41) el 4.9 % son además heterocigotos en DQ8

Del total de homocigotos en DQ8 (9) el 22.2 % son además heterocigotos en DQ2

Del total de pacientes (69) 50.7 % son homocigotos para DQ2 y no se detecta ningún haplotipo DQ8

El 2.9 % tienen positivos todos los haplotipos DQ2 y DQ8 y el mismo porcentaje de heterocigotos DQ2 y DQ8.

### Conclusiones:

La EC es una enfermedad multifactorial con un importante componente genético. En el área de Lugo existe un aumento de portadores de HLA DQ8 alelos DQA1\*0301y DQB1\*0302, ( 20-30% según se considere homo o heterocigoto) con una incidencia inferior de HLA DQ2 que en otras áreas españolas y europeas (60-70%) con respecto a lo publicado\*

Es necesario seguir investigando en otras regiones de Galicia para confirmar esta distribución diferente de los marcadores genéticos en esta enfermedad y confirmar con otros estudios, este aumento de incidencia en el haplotipo HLA DQ8.

WGO Practice Guidelines: enfermedad celíaca

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 019

### ESTUDIO DEL GEN MICA EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL.

Autor/a/s: Moreno Casares, Antonia María; Gómez Moreno, Eva María, González Espartero, María del Pilar; Martín Casares, Antonia María; Martínez Chamorro, Alba; López Nevot, Miguel Ángel.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Localidad: Granada

Correo electrónico del primer firmante: tmcgranada@hotmail.com

### Introducción:

La Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) es un proceso inflamatorio crónico que afecta al tracto digestivo cuya etiología es aún desconocida. Algunos de los síntomas que acompañan a la enfermedad son el dolor abdominal, diarrea severa, sangrado rectal y pérdida de peso. Dentro de la EII se engloban la Enfermedad de Crohn y la Colitis Ulcerosa. Ambas enfermedades tienen características en común y diferencias en cuanto a la localización de las lesiones y las capas del intestino a las que afectan, la severidad de las mismas, el tipo de respuesta inmunológica que predomina y la susceptibilidad de los pacientes a sufrir cáncer de colon.

El gen que codifica para MICA se encuentra en el cluster MHC, situado entre los genes de HLA-B y TNF $\alpha$ , y pertenece a los denominados genes de MHC de Clase I no clásicos. Es un locus polimórfico, si bien bastante menos que las MHC-I clásicas, en el que en un principio se describieron al menos 16 alelos pero que a fecha de hoy se han identificado hasta 65.

### Objetivos:

El objetivo del estudio es comparar los genes que codifican para la molécula mayor de histocompatibilidad no clásica MICA en las tres poblaciones. Se ha descrito asociación de determinados alelos de MICA con la EII, concretamente en pacientes con CU, así como con otras enfermedades como la arteritis de células gigantes, diabetes mellitus insulino-dependiente, enfermedad celíaca o enfermedad de Addison (Ding et al, 2005). También se han demostrado alteraciones en la expresión de MICA en la superficie de células epiteliales del intestino, siendo esta menor en pacientes con CU que en controles pero no en el caso de EC. En cualquier caso, son necesarias más investigaciones que aclaren estas asociaciones y qué papel pueden jugar en la patofisiología de la EII.

### Material y métodos:

Se utilizaron 369 muestras de pacientes con Colitis Ulcerosa, 384 muestras de pacientes con Enfermedad de Crohn del Servicio de Digestivo del HUVN de Granada y 326 de controles sanos del Banco Regional de Sangre.

El polimorfismo del gen MICA en el exón 5 fue analizado usando el método descrito por Ota y col.

Los primers para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) fueron:

MICA 5F 5'-CCT TTT TTT CAG GGA AAG TGC-3', que fue marcado en la región 5' con 6-FAM y MICA 5R 5'-CCT TAC CAT CTC CAG AAA CTG C-3'.

El análisis se realizó midiendo el tamaño de los fragmentos de ADN mediante una electroforesis capilar con ABI Prism 3130XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) y los tamaños fueron determinados usando el software GenMapper v.4.0 (Applied Biosystems).

### Resultados:

En el gen MICA estudiamos un polimorfismo de la región transmembrana (TM) que consiste en n repeticiones de un trinucleótido (GCT). Los alelos se denominan dependiendo del número de repeticiones (4, 5, 6, 9). El alelo A.5.1, contiene además de 5 repeticiones del trinucleótido una inserción de una guanina en el segundo triplete (GGCT).

Se encontraron diferencias en la frecuencia del alelo A.5.1, que en este caso es mayor en la población de enfermos que en la población control.

El alelo A.5.1 sale en un 48% de muestras respecto a los controles que son un 20%. El alelo A.5.1/A.6 sale un poco aumentado en los casos respecto a los controles, pero no es significativo. El resto de alelos está en concordancia en casos y controles.

### Conclusiones:

- El alelo MICA A.5.1, tanto en homocigosis como en heterocigosis, está asociado con la Colitis Ulcerosa en nuestra población de enfermos.

- El genotipo homocigoto para el alelo MICA A.5 es protector frente a las formas de Enfermedad Inflamatoria intestinal en nuestro estudio.



**COEXISTENCIA DE BCR-ABL Y JAK2V617F EN UN PACIENTE DIAGNOSTICADO DE LMC.**

*Autor/a/s:* DIANA DOMÍNGUEZ DOMÍNGUEZ, ISMAEL VARELA TANG, CARMEN VILLEN A PERMANYER, ENCARNACIÓN SANTAFAE COLLADO, SILVIA MARCÉ TORRA, LURDES ZAMORA PLANA, TOMAS NAVARRO FERRANDO, ANA VEGA SANTAMARÍA, FUENSANTA MILLÁ SANTOS.

*Centro de trabajo:* ICO Badalona-Hospital Germans Trias y Pujol-IJC. *Localidad:* Badalona (BCN)

*Correo electrónico del primer firmante:* ddominguez@iconcologia.net

**Introducción:**

Las neoplasias mieloproliferativas (NMP) son un conjunto heterogéneo de enfermedades hematológicas que tienen como característica común la proliferación descontrolada de los precursores hematopoyéticos. Podemos diferenciar dos grandes grupos: A) Las filadelfia positivas (Ph+) que corresponden a la leucemia mieloide crónica (LMC). Ésta se caracteriza por presentar la translocación cromosómica t(9;22)(q34;q11) que da lugar a la formación del cromosoma Ph que produce la proteína de fusión BCR-ABL. B) Las filadelfia negativas (Ph-), como la policitemia vera, trombocitemia esencial o mielofibrosis primaria. Recientemente se ha descubierto que muchos pacientes con NMP Ph- presentan la mutación del gen JAK2V617F. En la mayoría de NMP, estas dos alteraciones (BCR-ABL y JAK2V617F) son mutuamente excluyentes.

**Objetivos:**

Analizar un caso de LMC Ph+ que presenta en su evolución la mutación JAK2V617F.

**Caso clínico:**

Hombre de 65 años sin alergias medicamentosas conocidas que en diciembre de 1998 acudió a nuestro centro por presentar dolor abdominal y esplenomegalia de 7-8cm a la exploración física. La analítica mostraba leucocitosis 148x10<sup>9</sup>/L con neutrofilia y basofilia, Hb 134 g/L, VCM 84fL, PLQ 177x10<sup>9</sup>/L índice FAG 3, LDH 734 U/L y presencia de la proteína de fusión BCR-ABL. Se realizó una biopsia de médula ósea (MO) que fue compatible con LMC y se inició tratamiento con interferón-alfa e hidroxiurea con mala tolerancia. En febrero de 2002 se cambió a imatinib consiguiendo respuesta completa citológica y citogenética y respuesta molecular mayor (RMM). Debido a un aumento de la ratio de BCR-ABL, en junio de 2009 se inició tratamiento con nilotinib alcanzando nuevamente RMM.

Desde enero de 2011 se detectó una ligera poliglobulia y leucocitosis, acompañada de una leve trombocitosis a partir de mayo de 2011. En la exploración física presentaba hepatomegalia de 3cm. Por sospecha de NMP Ph- se le solicitó un estudio del estado mutacional del JAK2V617F.

**Resultados:**

En febrero de 2012, el análisis del estado mutacional del JAK2V617F mediante la técnica de discriminación alélica, resultó ser positivo. Debido a este hallazgo, se realizó un estudio retrospectivo hasta el 2004 (primera muestra disponible en nuestro laboratorio) para determinar el momento de la aparición de dicha mutación, observándose el JAK2V617F desde septiembre de 2006, cuando la ratio de BCR-ABL era negativa (RMM).

**Discusión:**

Hasta la actualidad sólo se han encontrado 10 casos en los que coexiste el gen de fusión BCR-ABL y la mutación JAK2V617F. En estos pacientes, la mutación del JAK2V617F se detecta en el momento que empieza a ser efectivo el tratamiento para LMC y la ratio BCR-ABL disminuye.

Se desconoce si la mutación JAK2V617F se adquiere entonces o ya esta presente desde un inicio pero queda camuflada por la ventaja proliferativa de las células BCR-ABL positivas. Aunque se trata de un hallazgo muy raro es importante pensar en él cuando un paciente con LMC en RMM presenta con poliglobulia y/o trombocitosis.

**EXPERIENCIA EN LA UTILIZACIÓN DE LA TECNOLOGÍA GENEXPERT EN LA CUANTIFICACIÓN DE LA REORGANIZACIÓN BCR-ABL**

*Autor/a/s:* Barceló Liébana Esther, Moreno Hurtado Ester, García Méndez Sonia, Triviño Palomares Emma

*Centro de trabajo:* Secció de citogenètica Laboratori CATLAB. *Localidad:* Viladecavalls (Barcelona)

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

**Introducción:**

La leucemia mieloide crónica (LMC) forma parte de un grupo de enfermedades denominadas trastornos mieloproliferativos. Más del 95% de los pacientes son portadores de un cromosoma Philadelphia, resultante de la translocación recíproca t(9;22)(q34;q11), que implica la transferencia del gen Abelson (ABL) del cromosoma 9, a la región del grupo de puntos de rotura (BCR), del cromosoma 22, dando como resultado un gen de fusión BCR-ABL, y a una proteína de fusión que es una tirosinquinasa con actividad desregulada.

La determinación de presencia/ausencia de la reorganización bcr-abl t está indicada en la subclasificación de las neoplasias mieloproliferativas. Por otra parte, y de forma muy destacable, se recomienda la cuantificación de bcr-abl en el diagnóstico y monitorización de los pacientes con LMC. En este sentido exponemos nuestra experiencia en la utilización del sistema GeneXpert implementado en nuestro laboratorio en 2010.

**Objetivos:**

Valorar la idoneidad de la tecnología GeneXpert en un laboratorio de nuestras características, y analizar los datos obtenidos hasta el momento.

**Material y métodos:**

Se han estudiado un total de 161 pacientes, con una media de edad de 52 años, e indicaciones como leucocitosis, poliglobulia o, sin más especificación que la sospecha de síndrome mieloproliferativo crónico (SMPc), o concretamente sospecha de LMC. Se han realizado un total de 425 determinaciones, considerando las diagnósticas, y las ligadas a la monitorización de los pacientes con LMC. El estudio de BCR-ABL ha ido asociado al estudio del cariotipo en 227 ocasiones.

La muestra utilizada ha sido preferentemente de sangre periférica, i sólo ocasionalmente aspirado de médula ósea.

El método utilizado es el de PCR de transcripción inversa (RT-PCR), utilizando la plataforma GeneXpert. Según este procedimiento se integra y automatiza la obtención de ácidos nucleicos, la RT-PCR en tiempo real, y la detección de la secuencia a estudiar. El punto de rotura detectado es el mayor, y se utiliza ABL como gen control. La cuantificación del gen de fusión BCR-ABL se expresa como proporción BCR-ABL/ABL.

**Resultados:**

Un 11% de las muestras analizadas correspondientes a pacientes a diagnosticar fueron BCR-ABL positivas. Cabe destacar que se incluyen un gran número de pacientes, no con diagnóstico de certeza si no de exclusión, con algún signo compatible con SMPc. En este sentido, entre los pacientes BCR-ABL negativos a los que se solicitó cariotipo, 11 presentaron alteraciones, diferentes al cromosoma Philadelphia.

En cuanto a la monitorización de los pacientes diagnosticados de LMC, la técnica resultó altamente sensible y útil. De las 209 determinaciones realizadas como seguimiento, con valores positivos de BCR-ABL, 134 tuvieron un cariotipo normal, y sólo en 11 pudo detectarse el cromosoma Philadelphia.

**Conclusiones:**

Desde el punto de vista técnico, el método resulta excelente para un laboratorio de las características del nuestro, que, aunque cuenta con la posibilidad de ofrecer un diagnóstico integrado, mediante la colaboración de las secciones de hematología, citometría y citogenética, no cuenta con una sección específica de oncohematología molecular, por lo que ofrecer esta determinación sería difícilmente viable de otro modo. La tecnología GeneXpert es, en nuestra experiencia, rápida (nos permite obtener resultado en 2 horas desde la recepción de la muestra) y sencilla por lo que hace a la manipulación, y permite realizar determinaciones una a una, factor que, dado el número de muestras que manejamos, resulta muy ventajoso. Por otra parte, al tratarse de un sistema cerrado, minimiza las posibilidades de contaminación.

### DETECCION DE LA MUTACIÓN JAK2 V617F EN EL DIAGNOSTICO DE LOS SINDROMES MIELOPROLIFERATIVOS

Autor/a/s: GONZALEZ ESPARTERO MARIA DEL PILAR; GARCIA HUERTAS EVA MARIA; GOMEZ MORENO EVA MARIA; JIMENEZ GAMIZ PILAR; RODRIGUEZ RUIZ TERESA

Centro de trabajo: HOSPITAL VIRGEN DE LAS NIEVES. Localidad: GRANADA

Correo electrónico del primer firmante: pilargonzalez1974@hotmail.com

#### Introducción:

El gen Jak-2 es el responsable de la señalización del receptor de eritropoyetina. La mutación somática del gen V617-F permite el diagnóstico y clasificación de los trastornos mieloproliferativos. Estos trastornos son desordenes hematológicos clonales caracterizados por la proliferación anormal de uno o mas linajes mieloides en médula ósea y consecuentemente por un aumento de células maduras e inmaduras en sangre periférica. Incluyen patologías tales como Policitemia Vera(90% de casos), Trombocitemia esencial(50% de casos) y Mielofibrosis primaria(30-50% de casos).

La mutación involucra el cambio de una guanina por una timina en el nucleótido 184 (184G-T) del gen Jak2 que origina la sustitución de valina por fenilalanina en la proteína, originando desregulación de la actividad kinasa y proliferación de células hematopoyéticas de estirpe mieloide.

#### Material y métodos:

1. La extracción de DNA se realiza mediante método automático (Maxwell).
2. Cuantificación de DNA mediante espectrofotometría (Nanodrop ND-1000)
3. Detección de la mutación del gen Jak2 mediante PCR a tiempo Real en el analizador Lightcycler (Roche) a partir de 2ml de DNA. Utilizamos la enzima DNA Polimerasa FastStart(Roche) y los primers y las sondas FRET siguientes: Jak F (GGCAGAGAATTTCTGAAC), Jak R (GCTTTCCTTTTCACAAGATA), Jak FL (GTCTCCACAGAAACATACTCCATAA (Fic) y Jak LC (Cy5)AAAACCAATGCTT GTGAGAAAGCT(Phos).
4. La lectura de los resultados se realiza mediante las curvas de Melting. El alelo normal tiene una temperatura Melting de 57°C y el alelo mutado de 61°C.

#### Objetivos:

Detección de la mutación Jak2 V617-F para ayudar al diagnóstico de Síndromes Linfoproliferativos Crónicos (Policitemia Vera, Trombocitemia Esencial y Mielofibrosis)

#### Resultados:

En el Hospital Virgen de las Nieves en el año 2012 hemos realizado 377 estudios de la mutación Jak2 V617-F de los cuales 74 casos han resultado positivos (19.6%) la más frecuente ha sido Trombocitemia con un 35.16%.

#### Conclusiones:

En la literatura la patología que más se asocia a la mutación Jak2 V617-F es la Policitemia Vera. La diferencia con nuestros resultados puede deberse a una mayor prevalencia de la trombocitemia en el área que cubre nuestro hospital.

En este caso se trata de una pareja con una hija que manifiesta una enfermedad cuyo único tratamiento es el trasplante alogénico de médula ósea y HLA compatible, Anemia de Fanconi A. Tras recibir los permisos necesarios por parte del "Organismo nacional de trasplantes" y de la Comisión Nacional de Reproducción Humana (CNRHA), nuestro objetivo será obtener mediante el uso de la reproducción asistida, descendencia sana y HLA compatible para curar a su hermana enferma.

#### Material y métodos:

Pareja que contactan con nosotros porque tienen una hija afecta con Anemia de Fanconi A y desean descendencia sana para esta enfermedad y HLA compatible con la hija enferma. Necesitamos prueba de informatividad debido a la consanguinidad de la pareja y muestra de sangre en EDTA de ambos y de la niña.

Después de obtener todos los consentimientos y la resolución positiva por parte de la CNRHA, comenzamos con el tratamiento de reproducción asistida. Se realizan un total de cuatro ciclos de estimulación pero debido a la singularidad del caso, solo conseguimos transferencia embrionaria en dos de los tratamientos.

#### Resultados:

En el primer ciclo se obtienen 12 ovocitos, 11 de los cuales son maduros. De los 9 ovocitos fecundados, se biopsiaron 4 embriones. Transferimos un embrión normal y HLA compatible con la hermana. El resto de embriones son todos sanos para la anemia de Fanconi, dos homocigóticos normales y uno portador. Se congelan. Nueve días después se realiza la beta, resultando positiva. A los diez días vienen a ecografía, donde no se visualiza saco gestacional. Tras el descenso de la beta, confirmamos que se trata de un aborto.

En el segundo y tercer ciclo contamos con 15 y 8 ovocitos maduros respectivamente de los cuales se obtienen 1 y 3 embriones sanos pero no compatibles. Los pacientes solo quieren embriones compatibles, así que serán congelados y se realizarán un nuevo ciclo.

Tras los ciclos previos fallidos, la pareja decide que éste será su último intento, además acceden a transferirse embriones sanos aunque no sean histocompatibles con su hija. Tras realizar la punción folicular, se obtienen 15 ovocitos de los cuales 12 son maduros y microinyectados. Todos fecundan pero sólo 7 se biopsian. Una vez analizados, tenemos un embrión normal portador y compatible que será transferido y 4 congelados. Al realizar la prueba en orina, se obtiene un resultado positivo. Pocos días después, en ecografía se observa saco gestacional de 36mm, vesícula vitelina de 6,5mm CRL de 17,5 mm con latido cardíaco fetal positivo. GESTACIÓN ÚNICA a la espera de recién nacido vivo.

#### Conclusiones:

La fusión de las técnicas de reproducción asistida, junto con la citogenética molecular, nos han permitido conseguir una gestación, cuyo objetivo será servir de curación a su hermana enferma. Esto hubiera sido imposible sin el uso de estas técnicas.

### COMPARATIVA DE TRES TÉCNICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE KRAS EN PACIENTES CON CÁNCER COLORRECTAL METASTÁSICO

Autor/a/s: Gil Galochino, M<sup>a</sup> Carmen; Robles Solano, Maitane y Viedma Beltrán, Adriana

Centro de trabajo: Clínica Universidad de Navarra. Localidad: PAMPLONA

Correo electrónico del primer firmante: mcgil@unav.es

#### Antecedentes:

El cáncer colorrectal (CCR) es la patología tumoral con mayor incidencia en los países occidentales; junto con los tumores de mama y de pulmón, son los que conllevan mayor mortalidad. La supervivencia global a 5 años es de aproximadamente el 50%, llegando a ser del 10% en los pacientes con enfermedad en estadios avanzados. Dada la gran incidencia y las altas tasas de mortalidad, se han ido aplicando diversos protocolos terapéuticos basados en agentes quimioterapéuticos generales, y más recientemente se han implementado nuevos protocolos que prevén el uso combinado de dichos quimioterapéuticos con anticuerpos monoclonales frente a dianas oncogénicas específicas o biomarcadores.

### USO DE LA CIENCIA PARA CREAR EMBRIONES DE ESPERANZA

Autor/a/s: David Cernuda, María Testillano, Diego Becerra, Adela Rodríguez, David Agudo

Centro de trabajo: IVI MADRID. Localidad: MADRID

Correo electrónico del primer firmante: david.cernuda@ivi.es

#### Introducción:

Habitualmente a nuestra clínica llegan pacientes con intención de solucionar sus problemas de fertilidad, en ocasiones relacionados con alteraciones génicas o cromosómicas. El tratamiento específico en estos casos es el diagnóstico genético preimplantacional (DGP) mediante PCR o CGH-ARRAY, estudiando al menos una célula de cada embrión analizado. En determinados casos, es necesario solicitar pruebas y autorizaciones específicas que hacen del mismo un proceso muy largo.

Gracias a la implementación de nuevas herramientas terapéuticas basadas en anticuerpos monoclonales frente al EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor), el conocimiento del estado mutacional del gen KRAS es en la actualidad un factor clave para la toma de decisiones terapéuticas debido a su valor predictivo negativo de respuesta al uso de dichos tratamientos.

Este hecho ha potenciado la necesidad de la implementación del análisis de KRAS en la mayoría de los hospitales, de una manera estandarizada dentro de la práctica asistencial.

#### Objetivo:

Esta comparativa tiene el fin de estandarizar la determinación de las mutaciones de KRAS, analizando tres de los diferentes métodos analíticos disponibles, sus características y sensibilidad, que serán de interés a la hora de incorporar dichas determinaciones en la rutina asistencial.

#### Material y métodos:

En ADN extraído de biopsia tumoral con el kit NucleoSpin Tissue (Macherey-Nagel) se analizan las 8 mutaciones más prevalentes de los codones 12 y 13 del gen KRAS de 10 pacientes mediante tres técnicas:

PCR tiempo real con Kit Therascreen KRAS PCR (EU IVD Directive 98/79/EC). Esta técnica permite el análisis cuantitativo y cualitativo de secuencias de ADN, detectando hasta un 1% de ADN mutado sobre un fondo de ADN nativo.

Pirosecuenciación que permite el análisis cualitativo y cuantitativo de secuencias de ADN y consiste en una variante de la secuenciación en la que, por cada dNTP hibridado se libera un pirofosfato en cantidad equimolar a la cantidad de nucleótido incorporado, el pirofosfato se transforma en ATP que, tras varias reacciones enzimáticas, proporcionará una señal en forma de luz.

Secuenciación de Sanger: La secuenciación de DNA se realiza por el método de Sanger, usando dideoxinucleótidos trifosfato fluorescentes y un secuenciador capilar de DNA, ABI3130XL, Applied Biosystems. Los resultados obtenidos se analizaron mediante el programa Seq Scape 2.5, que permite comparar las secuencias obtenidas con las secuencias patrón.

#### Resultados:

Se analizan las muestras de 10 pacientes, de estado mutacional conocido, realizando una comparativa de las tres técnicas, respecto a la sensibilidad y reproducibilidad, utilizadas en nuestro laboratorio: secuenciación Sanger, pirosecuenciación y PCR tiempo real, comprobando que los resultados son equiparables en la literatura.

#### Conclusión:

En la actualidad existen más de 20 técnicas para analizar la mutación de KRAS, que se diferencian en los formatos disponibles, sensibilidad y tecnología empleada en cada una de ellas. Inicialmente se realizaba la determinación de mutaciones de KRAS mediante secuenciación Sanger, aunque se ha demostrado que la sensibilidad de dicha técnica no es óptima, con lo cual se está sustituyendo por PCR en tiempo real o bien en PCR con sondas o cebadores específicos de alelo, que proporcionan mayor sensibilidad.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 055**

### OPTIMIZACIÓN DEL PROCEDIMIENTO PARA ESTUDIO GENÉTICO DE HAPLOTIPOS HLA DE LA ENFERMEDAD CELIACA.

*Autor/a/s: PINA ECHEVARRIA MARIA JOSE, ROYO GUALLAR ROSARIO, SANTA-NATALIA ARRIZABALAGA YOLANDA, LORENTE MARTINEZ FABIOLA.*

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

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

#### Introducción:

La enfermedad celiaca es un proceso inflamatorio crónico del intestino activada por la ingesta de gluten ó proteínas relacionadas que se encuentran en el trigo, cebada y centeno. Es una enfermedad con una prevalencia de entre 1:100 y 1:500 en Europa y Norte América. Su carácter hereditario se manifiesta por un aumento de la prevalencia entre familiares (10-15%), por lo que el uso de un test genético para la determinación de la presencia o ausencia de los haplotipos que codifican para HLA-DQ2 y HLA-DQ8, es determinante para ayudar al diagnóstico precoz de la enfermedad. Estos marcadores genéticos DQ2 y DQ8 son condición necesaria, pero no suficiente para que una persona sea afectada de la celiacía.

#### Objetivos:

Describir el procedimiento de trabajo (etapas en las que desempeña un papel clave el técnico de laboratorio) a implementar en el laboratorio para la determinación de los haplotipos de riesgo HLA-DQ2 y HLA-DQ8 asociados a celiacía, así como el protocolo de actuación para el proceso de amplificación del ADN por PCR, para después realizar un inmunoanálisis con tiras de celiacstrip en el equipo Auto-lipa y definir el algoritmo de trabajo a desarrollar para la adecuada realización de la técnica.

#### Material y métodos:

Mediante la realización de diversas pruebas y ensayos realizados en el laboratorio, con muestras de pacientes controles, afectos de celiacía, y mediante comparación con resultados previos obtenidos por otra metodología, se establecen las condiciones óptimas para la realización adecuada de la técnica, realizando una verificación de la misma antes de proceder a la implementación en el laboratorio.

#### Resultados:

Se estableció el siguiente protocolo de actuación: Partimos de un tubo de sangre total con EDTA del cual extraeremos el ADN en un robot de QUIAGEN (EZI) advanced. Utilizamos un kit OPERON (inmuno/molecular diagnostic), procedemos a realizar una mix con los primers, la premezcla y la taq, en un tubo de ependorf de 0.2 echamos 45 µl de esa mix, mas 5 µl del ADN del paciente, todo ello bien vortexado. Lo introducimos en un termociclador (2720 thermal cycle) programa de celiacía que dura aproximadamente 2h30min. Cuando termina cargaremos 3 µL de esa PCR en un gel de agarosa al 2% y con ello confirmamos mediante electroforesis la amplificación del ADN si ha sido correcta. En una bandeja del auto-lipa colocamos 12.5 µl de la PCR mas 12.5 µl del desnaturalizante. Colocamos las tiras, programa de operon en el que se basa en una hibridación mediante el uso de un conjugado que se une a la biotina marcada de los fragmentos de ADN amplificados. Tras añadir el sustrato se genera un precipitado de color donde se ha producido la hibridación. Como resultado podemos obtener 14 genotipos asociados a la celiacía.

#### Conclusiones:

El diseño del flujograma de trabajo, así como el establecimiento de las condiciones óptimas para el desarrollo de la técnica permiten obtener unos resultados fiables con gran relevancia para el Clínico en el diagnóstico de celiacía y así ofrecer un asesoramiento genético adecuado al paciente y familiares de primer grado.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 059**

### COMPARACIÓN SISTEMÁTICA DE DOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ADN

*Autor/a/s: MARIA INMACULADA MARTINEZ MATIENZO; JUSTINA GARCIA COS-GAYA; MARIA ISABEL GUERRICABEITIA ARRIAGA; ESTIBALIZ ACHALANDABASO RUIZ; KERMAN ZORROZA FERNANDEZ; ANA BELÉN RODRIGUEZ MARTINEZ*

*Centro de trabajo: UNIDAD DE GENETICA. HOSPITAL UNIVERSITARIO DE BASURTO. Localidad: BLBAO*

*Correo electrónico del primer firmante: M.INMACULADA.MARTINEZMATIENZO@OSAKIDETZA.NET*

#### Introducción:

Una gran parte de las técnicas que habitualmente se llevan a cabo en el Laboratorio de Genética Molecular se realizan a partir de ácido desoxirribonucleico (DNA). La extracción y purificación del mismo a partir de sangre periférica o de otros tejidos es, por tanto, un paso fundamental y determinante en la mayoría de técnicas moleculares. Existen numerosos métodos descritos y en este trabajo presentamos una comparativa que ayude en la elección del más adecuado en función de las necesidades de cada laboratorio.

#### Objetivos:

Comparar el rendimiento (cantidad y pureza) de dos métodos de extracción de DNA: la precipitación salina (PS) y un sistema comercial de extracción por columna (Quiagen®).

#### Material y métodos:

1) Extracción de leucocitos: se parte de 4 ml de sangre total. Se centrifuga (1500 rpm, 10 min) y se desecha el sobrenadante. Se lava cuatro veces (añadiendo 6, 4, 2 ml de BLE y 1 ml de PBS, centrifugando a 1500 rpm durante 10 min) y el botón de células que queda se resuspende en 200 ml de PBS. Se alicuotan 100 ml en cada uno de dos tubos Eppendorf.



2) Extracción de DNA por el método de precipitación salina (PS): a uno de los tubos (100 ml) se le añaden 500 ml de BLC –buffer de lisis de células–, 50 ml de SDS – y 15 ml de proteinasa K, dejando digerir durante 18-24 horas a 37 °C. Se resuspende añadiendo 170 ml de TE. La duración del método se aproxima a las 30 horas desde el inicio del procesamiento de la muestra.

3) Extracción de DNA por el método de columnas (Q): a uno de los tubos (100 ml) se añaden 20 ml de proteinasa K, 200 ml de buffer AL, incubar a 56 °C durante 30 min. Añadir Etanol Absoluto (200 ml). Se lava dos veces en columnas con Buffer AW1 y BufferAW2. Tras centrifugar 5 min. a 8000 rpm, se resuspende añadiendo 170 ml de H<sub>2</sub>O. La duración del método desde el inicio del procesamiento de la muestra se aproxima a las 2 horas.

4) Medición de la capacidad de extracción: se utilizan 1.5 ml de la suspensión en un lector espectrofotométrico (NanoDrop™ 1000). La concentración de ADN se calcula utilizando la ecuación de Beer-Lambert, que correlaciona la absorbancia y la concentración, y la pureza se estima con la relación A260/A280 y A260/A230.

5) Análisis estadístico: se obtienen la media, la desviación estándar y el Intervalo de Confianza al 95% (IC95) de cada una de las mediciones cuantitativas. Se realiza la comparación mediante la prueba T para muestras independientes y la prueba no paramétrica de Kolmogorov-Smirnov. El análisis se realiza mediante el paquete estadístico IBM SPSS Statistics 20. Niveles de p<0.05 se consideran significativos.

### Resultados:

Se extrae DNA de 21 muestras de sangre por ambos métodos. La concentración media obtenida por el método PS es de 192,2 (± 77,5) ng/ml y por el método Q es de 84,1 (± 37,7) ng/ml, siendo estadísticamente significativa la diferencia entre ambos valores (p<0.05). El valor medio (IC95%) de la pureza de ADN obtenida mediante PS (A260/280=1,89 (1,878 a 1,908); A260/230=2,26 (2,226 a 2,304) y mediante el método Q (A260/280=1,86 (1,839 a 1,878); A260/230=2,00 (1,899 a 2,104). Se ajustan a los valores de referencia (1,878 para A260/280 y 1,8-2,2 para A260/230). Se observan diferencias estadísticamente significativas para PS (p=0.044), debidas probablemente al bajo número de muestras analizadas.

### Conclusiones:

La precipitación salina permite extraer una mayor cantidad de DNA que el método de columnas, con una pureza similar (ambas en rangos aceptables). El método de extracción por columna es mucho más rápido, por lo que también parece adecuado si la cantidad de DNA extraída es suficiente.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 060**

## ELABORAR UNA GUÍA DE TRABAJO TÉCNICO EN LA UNIDAD DE GENÉTICA MOLECULAR

*Autor/a/s: MARIA INMACULADA MARTINEZ MATIENZO; JUSTINA GARCIA COS-GAYA; RITA MACHO GARCIA; MARIA ASUNCION TAPIA LOMAS; MARIA ANGELES FIAÑO FRAGA; ESTHER SARASOLA DIEZ*

*Centro de trabajo: UNIDAD DE GENÉTICA. HOSPITAL UNIVERSITARIO DE BASURTO. Localidad: BILBAO*

*Correo electrónico del primer firmante: M.INMACULADA.MARTINEZMATIENZO@OSAKIDETZA.NET*

### Introducción:

Las personas que se incorporan a trabajar en el laboratorio de genética no conocen la sistemática de trabajo, por lo que la elaboración de un documento de acogida ayudaría a su integración en el equipo de trabajo y minimizaría el riesgo de errores.

### Objetivos:

Elaborar una guía del proceso de trabajo técnico en el laboratorio de Genética Molecular del Hospital Universitario de Basurto.

### Material y métodos:

Se constituye un grupo de trabajo con dos facultativos y dos técnicos del Servicio de Genética. Se elabora un calendario con las actividades, responsables y fechas. Se recogen los protocolos específicos de cada técnica utilizada. De cada uno de estos protocolos, se realiza una síntesis con los aspectos más importantes, que se recogen en unas fichas gráficas para facilitar su comprensión y lectura. Se describen los conceptos básicos imprescindibles para entender la dinámica de trabajo en el laboratorio y se define el diagrama de flujo de las actividades realizadas por los técnicos.

### Resultados:

El grupo de trabajo se ha reunido en cinco ocasiones. El documento elaborado incluye una **Introducción**, la secuencia de actividades, con tres fases: 1. Extracción de DNA de las muestras del paciente; 2. Amplificación de los fragmentos específicos de interés; y 3. Secuenciación del fragmento analizado, con el fin de detectar variantes patológicas. En cada una de las fases, la guía contiene un resumen de las técnicas utilizadas. Al final, se incluyen dos anexos, uno con los conceptos básicos; y otro con el diagrama de flujo de las actividades.

### Conclusiones:

El documento elaborado:

1. Facilita la integración del personal técnico de nueva incorporación (TEL y estudiantes) en la rutina de trabajo del laboratorio.
2. Mantiene la dinámica habitual de trabajo.
3. Se revisan y actualizan los protocolos de trabajo y las diferentes técnicas al ser utilizadas por diferentes personas, que aportan otra visión.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 080**

## DIAGNÓSTICO DEL SÍNDROME DEL CROMOSOMA X-FRÁGIL CON LA APLICACIÓN DE NUEVAS METODOLOGÍAS

*Autor/a/s: JIMÉNEZ SÁNCHEZ MARIA DOLORES, LÓPEZ SOUTO VERÓNICA, BADENAS ORQUIN CELIA, MILA RECASENS MONTSERRAT*

*Centro de trabajo: HOSPITAL CLÍNICO DE BARCELONA-Servio de Bioquímica y Genética Molecular. Localidad: BARCELONA*

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

### Introducción:

El Síndrome X-Frágil (SFX) es la causa más común de discapacidad intelectual familiar. Este síndrome es debido a una expansión de la zona repetitiva CGG situada en la región 5'UTR del gen FMR1 el cual presenta una herencia dominante ligada al cromosoma X. En la población general existen 3 tipos de alelos: individuos normales (5-54 CGG), individuos portadores (55-200 CGG) e individuos afectados (> 200 CGG). Las manifestaciones clínicas de este síndrome son muy características, junto a la presencia de antecedentes familiares de discapacidad intelectual hacen sospechar del síndrome. Es el análisis molecular es el que da el diagnóstico definitivo. Actualmente se han desarrollado nuevas metodologías para el diagnóstico de este síndrome que acortan el tiempo en la obtención de resultados.

### Objetivos:

Mostrar las distintas técnicas empleadas así como la estrategia a seguir en el diagnóstico molecular del síndrome X- frágil: Lo que permite ofrecer consejo genético a las familias y en caso de ser necesario un diagnóstico prenatal.

### Metodología:

Nuestro trabajo se desarrolla en el Servicio de Bioquímica y Genética Molecular de diagnóstico Biomédico (CDB) del Hospital Clínico de Barcelona. Las muestras son remitidas con sospecha clínica del síndrome y proceden de los servicios de Ginecología, Neurología, y Psiquiatría de nuestro hospital y también de otros centros externos de todo el país. El tipo de muestras con las que trabajamos es DNA extraído de diferentes tejidos como sangre periférica, Biopsia de corion, líquido amniótico, sangre de cordón o cualquier otro tejido. El análisis molecular de la región repetitiva CGG se realiza mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Cuando el resultado obtenido requiere una mayor resolución se recurre a la técnica Southern-blot. Esta última es una técnica compleja con una larga duración de para la obtención final de resultados.

### Resultados:

Tras 20 años de experiencia con este síndrome, se han diagnosticado 450 familias afectadas del síndrome que representan 800 individuos portadores 700 afectados con la mutación completa. Se han realizado además 150 estudios prenatales. La implementación de las nuevas metodologías ha proporcionado la misma información en menor tiempo que utilizando la técnica de Southern-blot.

### Conclusiones:

Los nuevos Kits que en la actualidad hay en el mercado son igual de eficaces que otras técnicas más antiguas y considerablemente más rápidos. De esta manera podemos ofrecer los resultados en un período de tiempo mucho menor, esto es de gran ventaja cuando se trata de casos de diagnóstico prenatal.



**CÁNCER DE CÓLON HEREDITARIO**

*Autor/a/s: LÓPEZ SOUTO VERÓNICA, JIMÉNEZ SÁNCHEZ MARIA DOLORES, COSTA BOIX LOURDES, BADENAS ORQUIN CELIA, MILA RECASENS MONTSE-RRAT*

*Centro de trabajo: HOSPITAL CLINICO DE BARCELONA-Bioquímica y Genética Molecular. Localidad: BARCELONA*

*Correo electrónico del primer firmante: veronica\_lopez\_souto@hotmail.com*

**Introducción:**

El cáncer de colon y recto (CCR) es uno de los cánceres más frecuentes en nuestra población y presenta un elevado índice de mortalidad. La mayor parte son de origen esporádico, y no presentan ninguna alteración genética constitucional. Sin embargo, alrededor del 5-10% de los cánceres colorectales son heredados, mostrándose como familiares. Podemos distinguir entre la Poliposi Adenomatosa Familiar (PAF) causada principalmente por alteraciones en el gen APC o el gen MUTYH Poliposi Adenomatosa Familiar Atenuada (PAFA) y el Cáncer Colorectal Hereditario No Polipósico (CCHNP) o Síndrome de Lynch el cual está causado por una alteración en alguno de los genes reparadores del ADN (Miss Matched Repaired genes). Principalmente se encuentran alteraciones en los genes MLH1, MSH2 y MSH6.

**Objetivos:**

Mostrar la metodología y los algoritmos de diagnóstico genético utilizados en el estudio genético del CCR familiar.

**Metodología:**

Este estudio se realiza en el Servicio de Bioquímica y Genética Molecular del Centro de Diagnóstico Biomédico (CDB) del Hospital Clínico de Barcelona. Los pacientes estudiados son para confirmación diagnóstica, y/o diagnóstico presintomático y son remitidos por el Servicio de Gastroenterología del Hospital Clínico y de otros centros de Cataluña. El tipo de muestra estudiada es ADN extraído de sangre periférica. La detección de mutaciones en el gen MUTYH(NM001128425.1) se basa en la discriminación alélica de los dos cambios más frecuentes Y179C (537A>G; exón 7) y G396D (1187G>A; exón 13) mediante sondas Taqman®. Por otra parte, para el estudio del gen APC MLH1, MSH2 y MSH6 se analizan las alteraciones (ganancias o pérdidas de material cromosómico) mediante la técnica Multiple Ligation Probe Amplification (MLPA®), y el estudio mutacional se realiza mediante secuenciación directa del gen responsable.

**Resultados:**

Se han estudiado 463 núcleos familiares independientes con diagnóstico clínico de PAFA y/o PAF, de las cuales 24 presentan una mutación en el gen MUTYH y 34 en el gen APC.

En el caso de Síndrome de Lynch se han estudiado un total de 196 núcleos familiares independientes donde 26 presentan alteraciones en el gen MLH1, 18 en el gen MSH2 y 6 en el gen MSH6.

**Conclusiones:**

El estudio genético se utiliza para: Identificar si el CCR es esporádico o familiar, si es familiar el hecho de identificar la mutación permite realizar un diagnóstico presintomático a los familiares a riesgo y así diseñar un correcto seguimiento clínico y detección en una fase temprana.

**MUTACIONES ASOCIADAS A LEUCEMIAS MIELOBLASTICAS AGUDAS: FLT3 Y NPM1**

*Autor/a/s: García Huertas Eva María, Gonzalez Espartero María del Pilar, Moreno Casares Antonia María, Jimenez Gamiz Pilar*

*Centro de trabajo: Hospital Virgen de las Nieves. Localidad: Granada*

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

**Introducción:**

El 40-50% de las Leucemias Mieloblásticas Agudas (LMA) presentan cariotipo normal. En este grupo se hacen necesarios nuevos marcadores moleculares es-

pecíficos que contribuyan a estratificar de una manera más eficaz a los pacientes en nuevos grupos y subgrupos de riesgo. Estudios recientes indican que las mutaciones somáticas en los genes NPM1 y FLT3 tienen relevancia pronóstica y se correlacionan con la respuesta al tratamiento en pacientes de LMA con citogenética normal. La mutación ITD (internal tandem duplication) de FLT3 puede afectar de forma adversa el curso de la enfermedad. Por el contrario la mutación en NPM1 sin mutaciones en FLT3 puede determinar un pronóstico favorable.

**Materiales y Métodos:**

Se realiza una extracción de DNA a partir de sangre periférica automatizada. Una vez extraído el DNA se cuantifica en un espectrofotómetro.

Se prepara una PCR para cada mutación en la cual usaremos una concentración mayor a 50ng de DNA.

El método se fundamenta en la amplificación mediante PCR de los exones 11 y 12 del gen FLT3 en donde recaen las duplicaciones parciales en tándem, empleando primers marcados con fluorógenos (6-FAM). Se analiza el ratio ITD mutante/salvaje mediante electroforesis capilar y el software Genemapper de Applied Biosystems.

El método empleado para la detección de mutaciones en el gen NPM1 se fundamenta en amplificación de un fragmento de 197pb del gen mediante PCR del exón 12, utilizando los cebadores descritos por Gale et al. tras la modificación del Forward con 6-FAM. La detección del fragmento amplificado se realiza mediante electroforesis capilar.

**Objetivos:**

Detección de las mutaciones FLT3 y NPM1 para establecer pronóstico de las Leucemias Mieloblásticas Agudas.

**Resultados y Conclusiones:**

En el año 2012 hemos realizado estas pruebas a 70 pacientes. De los cuales 47 han sido negativos tanto para FLT3 como para NPM1 y 23 casos positivos en ambas mutaciones o solo en una de ellas.

De los resultados obtenidos en los casos anteriores que han sido positivos donde más se asocia la mutación de NPM1 es a LMA monocítica (M5 de la clasificación FAB), y de la mutación de FLT3 es a LMA con maduración (M2) y donde es más común las dos mutaciones es a LMA sin maduración (M1) y LMA mielomonocítica (M4).

En la mutación FLT3 han sido positivos 11 casos y en NPM1 17 casos de los cuales positivos para ambas mutaciones han sido 4 casos, cuando se asocian indican mal pronóstico.

Estas mutaciones son factores de pronóstico. Siendo: FLT3 mutado de mal pronóstico (el más grave), NPM1 mutado de buen pronóstico, FLT3 mutado y NPM1 mutado de mal pronóstico.

**APORTACIÓN DE LA FARMACOGENÉTICA A LA MEDICINA INDIVIDUALIZADA EN EL TRATAMIENTO CON EFVIRENZ DE PACIENTES CON VIH : DETERMINACIÓN DE UN POLIMORFISMO DEL GEN CYP2B6**

*Autor/a/s: Grego Martín, Amador; Carrero Baz, Pilar; García Berrocal, Belen; Moreno Obregón, Fernando; Isidoro García, María.*

*Centro de trabajo: Complejo Asistencial Universitario Salamanca. Localidad: Salamanca*

*Correo electrónico del primer firmante: amacre@usal.es*

**Introducción:**

El gen CYP2B6 codifica una proteína perteneciente al grupo del citocromo P450. En este gen se ha identificado un polimorfismo relacionado con la respuesta a determinados antirretrovirales como el Efavirenz (EF). El polimorfismo 516G>T descrito en población caucásica, parece estar relacionado con la necesidad de reducir la dosis de EF en pacientes con VIH, ya que la enzima tiene menor actividad y mantiene los niveles del fármaco en plasma durante más tiempo. También mostró una asociación con un elevado porcentaje de efectos adversos fundamentalmente neurológicos que conllevan una disminución de la calidad de vida. Los individuos portadores de dos copias del alelo G (genotipo GG) admiten una dosis más elevada (600 mg). Por el contrario, los individuos portadores TT son metabolizadores pobres y precisan una dosis más baja (200 mg) y los portadores del genotipo GT

son metabolizadores intermedios, precisando solo cierta disminución de dosis de EF (400 mg).

### Objetivo:

Considerando que el genotipo específico que presenta cada paciente se correlaciona con el ajuste de dosis de Efavirenz en pacientes con VIH nos planteamos la incorporación de este polimorfismo a la cartera de servicios de la sección de Genética Molecular y Farmacogenética del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca con el fin de poder individualizar la terapia antirretroviral y disminuir los efectos secundarios.

### Material y métodos:

En este estudio se incluyeron 73 pacientes con VIH (57 varones y 16 mujeres). Se realizó la extracción de DNA a partir de una muestra de sangre total mediante el sistema MagnaPure® Compact (Roche Diagnostics). A partir del DNA se realizó un análisis de PCR en tiempo real empleando sondas FRET, en un equipo LightCycler® (LC) 480 (Roche Diagnostics) utilizando los primers y sondas adecuados para las discriminaciones alélicas.

Para la confirmación inicial de los genotipos homocigotos GG y TT se empleó la secuenciación de Sanger en un secuenciador automático Gene Amp PCR System 9700 de Applied Biosystems tras amplificación mediante PCR y posterior purificación en columna. El análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS y el equilibrio de Hardy-Weinberger se analizó mediante la prueba de Chi<sup>2</sup>.

### Resultados:

En la puesta a punto metodológica se identificaron los correspondientes patrones con una Tm para el alelo G de 53°C y una Tm para el alelo T de 61°C.

En el análisis de las frecuencias alélicas se observó una frecuencia alélicas para el alelo G de 60.3 % y para el alelo T de 39.7%. El estudio de las frecuencias genotípicas permitió detectar una frecuencia genotípica de 0.36 para el genotipo homocigoto GG, de 0.48 para el genotipo heterocigotos GT, y un 0.16 para homocigosis TT.

### Conclusiones:

El ajuste de dosis mediante el análisis farmacogenético supone una estrategia de individualización terapéutica que puede suponer un ahorro de más de 1000 Euros por cada paciente. Dada la elevada incidencia de portadores del alelo T en nuestra población que alcanza casi el 40%, el análisis farmacogenético de CYP2B6 para el ajuste de dosis supone una importante mejora tanto de la seguridad farmacológica al disminuir los efectos adversos, como de la calidad de la práctica asistencial a la vez que reduce los costes sanitarios.

tabina en individuos con deficiencia parcial de DPD incluye síntomas gastrointestinales, mielosupresión, fiebre, mucositis, diarrea y en un porcentaje reducido de casos, neurotoxicidad. También se asocia con una cardiotoxicidad que incrementa el riesgo de infarto agudo de miocardio, inducción de arritmias ventriculares y supraventriculares. En los casos más graves pueden aparecer complicaciones como ataxia cerebelar, alteraciones de la función cognitiva e incluso la muerte.

### Objetivo:

Considerando que el genotipo específico que presenta cada paciente se correlaciona con la toxicidad y eficacia del tratamiento antineoplásico, nos planteamos el análisis del polimorfismo RS3918290 del gen DPYD\*2A, para la individualización de la prescripción terapéutica en pacientes tratados con 5-FU y con Capecitabina.

### Material y métodos:

Para la puesta a punto y validación se emplearon 20 muestras de sangre total. La extracción automatizada de ADN se realizó con el sistema MagnaPure® Compact (Roche Diagnostics) con 1 ml de sangre total, eluyendo en 200ul. El genotipado se realizó mediante PCR en tiempo real con sondas FRET, en un LightCycler® (LC) 480 seleccionando los Primers y Sondas adecuados para las discriminaciones alélicas. Posteriormente se aislaron las bandas del producto de PCR en un gel de Agarosa al 2% y se realizó la purificación de la banda mediante Kit High Pure PCR purification (Roche Diagnostics). El producto de PCR fue posteriormente clonado en un vector plasmídico para su posterior secuenciación empleando un secuenciador automático Gene Amp PCR System 9700 de Applied Biosystems.

### Resultados:

Se identificaron los correspondientes patrones con una Tm para el alelo G de 50°C y una Tm para el alelo A de 56°C. No se obtuvieron variaciones genotípicas ya que utilizamos muestras aleatorias procedentes de nuestro archivo de DNAs no necesariamente relacionadas con esta patología.

Para completar el procedimiento de validación de esta técnica se procedió también a una determinación externa de confirmación para la presencia del genotipo Homocigoto GG.

### Conclusiones:

La identificación de mutaciones en el gen DPYD asociadas a una deficiencia parcial de la enzima DPD permite la identificación de pacientes de riesgo y la búsqueda de tratamientos antineoplásicos alternativos a 5-FU y Capecitabina, evitando con ello los riesgos asociados a estos fármacos en estos pacientes. La estrategia más recomendable sería iniciar el estudio de forma previa a la administración de los fármacos para evitar en la medida de lo posible el riesgo de toxicidad grave asociado a los mismos.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 103**

### IMPORTANCIA DE LA DETERMINACIÓN DE POLIMORFISMOS DEL GEN DPYD QUE INFLUYEN EN LA EFICACIA Y TOXICIDAD FARMACOLÓGICA EN ONCOLOGÍA

*Autor/a/s: Carrero Baz, Pilar; Crego Martín, Amador ; García Berrocal, Belén; Isidoro García, María.*

*Centro de trabajo: Complejo Asistencial Universitario de Salamanca. Localidad: Salamanca*

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

### Introducción:

5-Fluorouracilo (5-FU) y Capecitabina son agentes antineoplásicos ampliamente empleados para el tratamiento de tumores ginecológicos, adenocarcinomas de origen gastrointestinal, cáncer de mama, próstata y vejiga. La mayoría de los casos de toxicidad frente a estos fármacos se deben a una deficiencia en la actividad de la enzima dihidropirimidina deshidrogenasa (DPD) asociada a la presencia de mutaciones en su gen codificante DPYD. Este gen localizado en el cromosoma 1p22, está compuesto por 23 exones y es un gen polimórfico para el que se han descrito hasta el momento más 30 variantes alélicas. El polimorfismo más común de gen DPYD es la variedad intrónica IVS14+1 G>A (DPYD\*2A, rs3918290). El mecanismo de acción de estos fármacos consiste en la inhibición mediante unión irreversible de la timidilato sintasa, que es una enzima esencial para la síntesis de nucleótidos de timina. De esta forma, se impide la síntesis de timina y, con ello, la replicación del DNA, inhibiendo la división celular y, por tanto, el crecimiento tumoral. En general, la toxicidad resultante de la administración de 5-FU y Capeci-

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 111**

### INFLUENCIA DE LOS TUMORES EN LA CALIDAD SEMINAL

*Autor/a/s: Rubio Garcia, Soraya, San Celestino Carchenilla, Marta, Pacheco Castro, Alberto*

*Centro de trabajo: IVI MADRID. Localidad: Madrid*

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

### Introducción:

La preservación de la fertilidad mediante la criopreservación de semen es fundamental en los pacientes oncológicos debido al daño, en ocasiones irreversible, que pueden producir los tratamientos de radio y quimioterapia tanto en la producción de espermatozoides como en el ADN de los mismos, pudiendo así afectar a las posibilidades de gestación. Esta técnica de criopreservación se realiza en la mayoría de los casos cuando el paciente ya está diagnosticado de cáncer, el cual podría producir una afectación de la calidad espermática.

### Objetivos:

El objetivo del presente trabajo fue determinar si los individuos oncológicos presentan una peor calidad seminal y un mayor índice de fragmentación de ADN espermático que los pacientes no oncológicos, tras la criopreservación y previo al tratamiento oncológico.

### Material y métodos:

Se analizaron 76 muestras de semen criopreservadas, 38 de pacientes oncológicos (edad media: 39.7 con tumores seminales, linfomas y leucemias) y 38 de in-

dividuos no oncológicos (edad media: 39.3), con parámetros seminales similares, utilizados como control.

Las muestras de semen se congelaron y descongelaron utilizando el mismo protocolo en ambos grupos y posteriormente se analizó la calidad seminal siguiendo los protocolos establecidos por la OMS (2010).

El análisis de fragmentación de ADN espermático fue realizado mediante la técnica TUNEL siguiendo el protocolo establecido por la casa comercial y posteriormente se analizó por citometría de flujo. El estudio estadístico se realizó con el programa SPSS, considerándose valores significativos a  $p < 0.05$ .

### Resultados:

El análisis seminal no mostró diferencias significativas entre ambos grupos (ver tabla)

	VOLUMEN	[ ]	% PROG	% NO PROG	% INMOV	TOTALES	% FRAGMEN
Control	3,12	47,54	42,62	10,95	46,44	62,55	24,74
Oncológicos	3,92	35,37	48,45	12,55	39	59,72	22,87

El porcentaje de fragmentación obtenido en individuos oncológicos fue de 22,9 % mientras que en los individuos control fue de 24,7 %, no existiendo tampoco diferencias importantes entre estos.

### Conclusiones:

Los resultados obtenidos nos indican que no hay diferencias seminales entre pacientes oncológicos, sin tratamiento previo y pacientes no oncológicos por ello es tan importante la criopreservación de muestra en dichos pacientes.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 156**

### DIAGNÓSTICO DE LINFOMA DEL MANTO POR HIBRIDACIÓN IN SITU FLUORESCENTE (FISH)

*Autor/a/s: Begoña Gloria Varela Soto, Loreto García Lagarejos, Belen Rodríguez Mena, Jesus Merino Chaves, Beatriz Blazquez Rios, Fernando Marco de Lucas, Jose Mª Beltran de Heredia Oyarzabal.*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario Basurto-Osakidetza.. Localidad: Bilbao-Bizkaia*

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

### Introducción:

El linfoma del manto (LM) es una forma rara del linfoma maligno no Hodgkin (LNH), que afecta a los linfocitos B en una región de los ganglios linfáticos llamada "zona del manto". Representa el 2-10% de los linfomas. Su prevalencia se estima en alrededor de 1/25.000. El linfoma de células del manto frecuentemente se asocia con: adenopatías generalizadas (90% de los casos), afectación gastrointestinal (60% de los casos) y afectación medular (55-80% de los casos). El linfoma de células del manto está causado por una translocación cromosómica t(11;14)(q13;q32); el gen de la ciclina D1 (CCN D1, PRAD-1) que está en la banda q13 del cromosoma 11, se yuxtapone a la región de las cadenas IgH en la banda 14q32, este hecho, conduce a la sobreexpresión de la ciclina D1, que es una proteína reguladora clave del ciclo celular.

### Objetivos:

Estudio y diagnóstico diferencial en un paciente con sospecha de linfoma de manto (LM) en muestra de adenopatía abdominal y medula ósea (MO) mediante análisis de Hibridación fluorescente in situ (FISH).

### Material y métodos:

Hibridación fluorescente in situ (FISH), es una técnica citogenética de marcaje de cromosomas mediante la cual estos son hibridados con sondas que emiten fluorescencia y permiten la visualización, distinción y estudio de los cromosomas así como las anomalías que puedan presentar.

### 1. Preparación de las muestras:

- Adenopatía abdominal: Hacer extensiones de células y dejar secar al aire, fijar las extensiones, sumergir en Metanol helado, 20 minutos a 4°C, pasar a Carnoy (25ml de Ac. Acético + 75ml de Metanol) 20 minutos a 4°C, secar al aire.
- Medula Ósea: Lavar las células en PBS, recoger la capa leucoplaquetar, someter el pellet a un choque hipotónico con CLK precalentado a 37°C, dejar en el baño a 37°C 20 minutos, centrifugar a 2000rpm durante 5 minutos, eliminar el sobrenadante, resuspender el pellet en 8ml de solución Carnoy añadir el primer mililitro gota a gota y agitando en vortex, repetir hasta conseguir un sobrenadante claro, resuspender el pellet en 1ml de Carnoy, tirar una o dos gotas sobre el portaobjetos y dejar secar al aire.

### 2. Codesnaturalización en placa e hibridación:

- KREATECH TM ON MYEON/IGH t(11;14)(q13;q32) donde la banda q13 del cromosoma 11 está marcada de color verde y el gen de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas IGH en rojo.
- Procedimiento- aplicar 5µl de la sonda correspondiente en el portaobjetos dentro del área de hibridación, cubrir con un cubreobjetos, colocar en la placa calefactora a 75°C durante 4 minutos, sellar con Parafilm, colocar en una cámara húmeda y dejar en una estufa a 37°C de 16 a 24 horas.

### 3. Lavados post-Hibridación:

- Quitar el parafilm y el cubreobjetos, sumergir el portaobjetos en una solución de lavado precalentada 0.4xSSC/0.3% NP-40 en un baño a 75°C durante 4 minutos, sumergir en una solución de lavado a temperatura ambiente 2xSSC/0.1%NP-40 durante 4 minutos con agitación orbital, secar a temperatura ambiente en oscuridad.

### 4. Observación al microscopio:

- Aplicar 10µl de contraste DAPI II en el área de hibridación, poner un cubreobjetos y observar al microscopio óptico de fluorescencia.

### Resultados:

- Adenopatía abdominal: Se observa un patrón de hibridación: Dos señales de fusión, una roja y una verde (2F1R1V) que implica t(11;14)(q13;q32)

FISH MO: 50% de las células presentan t(11;14)(q13;q32)

### Conclusiones:

- La técnica de FISH en el Linfoma del Manto es la técnica de elección en el diagnóstico diferencial con la LLC (Leucemia Linfocítica Crónica) y LZME (Linfoma de la zona marginal esplénico).

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 158**

### UTILIZACIÓN DEL ANÁLISIS DE LAS MUTACIONES DE NPM1 Y FLT3-ITD EN LA LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA DE CAROTIPO NORMAL PARA DEFINIR EL PRONÓSTICO DE ESTA ENTIDAD.

*Autor/a/s: SANDRA MARTINEZ PALACIOS, SANDRA CABEZAS FERNANDEZ, DOLORS COLOMER*

*Centro de trabajo: Hospital Clínico de Barcelona. Localidad: BARCELONA*

*Correo electrónico del primer firmante: sany20@hotmail.com*

### Introducción:

La Leucemia Aguda Mieloblástica (LAM) es una alteración clonal de las células hematopoyéticas muy heterogénea. La presencia de ciertas anomalías cromosómicas como son la t(8;21)(q22;q22), la t(15;17)(q22;q12) y la inv(16)(p13.1q22) o la t(16;16)(p13.1q22) son criterios suficientes para el diagnóstico de LAM y representan un grupo de riesgo favorable. Aproximadamente la mitad de los pacientes diagnosticados de LAM tienen un cariotipo normal y estos pacientes entran en un grupo de riesgo intermedio.

Recientemente se ha descrito en este grupo de cariotipo normal la presencia de mutaciones de la Nucleofosmina (NPM1) y en el fms-related tyrosine kinase-internal tandem duplication (FLT3-ITD). Estas mutaciones definen un grupo de riesgo favorable si presentan la mutación de NPM1 sola y de riesgo desfavorable si presentan mutaciones en FLT3-ITD, solas o acompañadas de mutaciones de NPM1.



## Objetivos:

Analizar la presencia de mutaciones en NPM1 y FLT3-ITD en LAM de cariotipo normal.

## Métodos:

Para la obtención de los leucocitos de Médula ósea realizamos una separación mediante un gradiente de densidad con Ficoll. Hacemos una extracción de RNA mediante TRIZOL® Reagent y el RNA se retro transcribe a cDNA. En el caso del FLT3-ITD se realiza una PCR para la amplificación del DNA que puede presentar mutaciones. El producto amplificado se visualiza mediante electroforesis en el equipo QIAEXCEL, que nos indicara si hay mutación, y se confirmara mediante un sistema GENESCAN utilizando el secuenciador ABI PRISM 3100y analizados con el software GENEMAPPER. En el caso de la NPM1 se realiza una PCR cuantitativa a tiempo real en el termociclador 7500 de Applied Biosystems.

## Resultados:

Se han realizado 42 estudios de NPM1 y FLT3-ITD en pacientes de cariotipo normal observándose positividad en 21 de ellos. Nueve casos tienen únicamente la mutación NPM1, 6 casos la mutación FLT3-ITD y 6 casos ambas mutaciones FLT3-ITD y NPM1.

## Conclusión:

La detección de mutaciones en NPM1 y FLT3-ITD en LAM con cariotipo normal es muy interesante ya que permite la reclasificación del 50% de los pacientes en grupos de mejor pronóstico (NPM1 mutados) o de peor pronóstico (FLT3-ITD mutados) que solo con ambas mutaciones.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 167

## ANÁLISIS DE LA MUTACIÓN DE JAK2 V617F EN LA TROMBOSIS ESPLÉNICA PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE UNA NEOPLASIA MIELOPROLIFERATIVA

Autor/a/s: Jiménez Martí Laura, Gonzalez Bermúdez Isabel, Colomer i Pujol, Dolors

Centro de trabajo: Unidad de Hematopatología, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clínic de Barcelona. Localidad: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: Ljimene1@clinic.ub.es

## 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 trombosis portal (TP) y el síndrome de Budd-Chiari (BC) va asociado a complicaciones relacionadas con las neoplasias mieloides filadelfia negativas (NPM). Así, el 50 % de los pacientes con BC y el 25 % de los pacientes con TP presentan una NPM.

## Objetivos:

Analizar la presencia de mutaciones de JAK2 en pacientes con trombosis esplénica en una serie de casos del servicio de Hepatología en el hospital Clínic de Barcelona.

## Métodos:

Se ha extraído ADN de granulocitos obtenidos en sangre periférica de muestras con trombosis esplénica (252 casos) y se ha analizado mediante PCR alelo específica el análisis de la mutación JAK2 V617F.

## Resultados:

Se ha encontrado la presencia de la mutación de JAK2 en 32 pacientes (12.7 % de los casos) remitidos por el servicio de hepatología.

## Conclusiones:

La detección de la mutación de JAK2 V617F es un test muy fiable para investigar la presencia de una neoplasia mieloproliferativa en pacientes afectados de TP y BC. Se ha propuesto que éste debe ser el primer test antes de realizar otras pruebas más invasivas para la búsqueda de una NPM en los casos de trombosis esplénica.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 173

## DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE DOS FAMILIAS CON DIABETES

Autor/a/s: Costa Lourdes, Boque Lluïsa, Blanco Jesús, Casamitjana Roser, Oriola Josep

Centro de trabajo: Hospital Clínic i Provincial de Barcelona. Localidad: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: lurd\_149@hotmail.com

## Introducción:

En los últimos años se ha evidenciado que un 3-6% de las diabetes son de tipo monogénico, mayoritariamente debidas a mutaciones en los genes de la glucoquinasa (GCK) y del factor hepatonuclear 1A (HNF1A), ambos con herencia autosómica dominante. La detección de estos casos repercute en su manejo clínico pues los pacientes con mutaciones en GCK no necesitan tratamiento y los pacientes con mutaciones en HNF1A responden bien a las sulfonilureas. Es por ello que en pacientes que presenten numerosos antecedentes familiares debe valorarse la realización del estudio genético.

## Objetivos:

Filiar el tipo de diabetes en dos familias con numerosos miembros afectados.

## Material y métodos:

Pacientes

Familia 1.- El caso índice es un varón de 8 años en el que se le detecta una glucemia en ayunas de forma repetida entre 110 y 128 mg/dl. Con el test de tolerancia oral a la glucosa se obtienen unos valores de 121 mg/dl en el punto inicial y 160 mg/dl a los 120 minutos. Su madre y sus dos tías maternas presentan diabetes diagnosticada a raíz de gestaciones y están sin tratamiento. Su abuela materna tiene diabetes y está tratada con metformina.

Familia 2.- El caso índice es una mujer de 22 años en la que se le detecta glucosuria. La glucemia en ayunas fue de 110 mg/dl. El test de tolerancia oral a la glucosa presentó valores de 118mg/dl en el punto inicial y 235mg/dl a los 120 minutos. Se inició tratamiento con metformina presentando a los 6 meses un mal control metabólico, cambiándose a insulina. Su madre y su abuelo materno presentan diabetes y están en tratamiento con insulina desde los 30 años aproximadamente.

## Método:

Se extrajo el DNA a partir de sangre periférica en los dos casos índice y en los familiares afectados. Para el estudio genético del caso índice de la familia 1 se secuenciaron los diez exones del gen GCK y para el estudio del caso índice de la familia 2 se secuenciaron los diez exones del gen HNF1A. También se realizó el estudio por MLPA (Multiplex ligation-dependent probe amplification) de ambos genes, para detectar posibles delecciones/duplicaciones.

## Resultados:

Familia 1.- En el caso índice se observó la mutación c.1019G>C (p.Ser340Thr) en heterocigosis en el exón 8 del gen GCK. Los familiares afectados mostraron ser portadores de dicha mutación.

Familia 2.- En el caso índice no se observó ninguna mutación puntual durante la secuenciación del gen HNF1a, sin embargo se objetivó en el MLPA una delección en heterocigosis que comprende los exones 3, 4 y 5. Los familiares afectados también mostraron ser portadores de dicha delección.

## Conclusiones:

- El diagnóstico molecular de los dos casos índice ha permitidoiliar el tipo de diabetes en las familias.

- En la familia 1, el diagnóstico de diabetes debida a mutación en el gen GCK permite descartar posibles tratamientos antidiabéticos en el caso índice y en las tres hermanas, y además retirar el tratamiento en la abuela materna. Este tipo de diabetes permite predecir un curso benigno de la enfermedad en todos los miembros afectados.

- En la familia 2, el diagnóstico de diabetes debida a mutación en el gen HNF1A permite cambiar del tratamiento de insulina a sulfonilureas en los tres casos afectados.



**ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE CICLINA D1 MEDIANTE PCR CUANTITATIVA COMO MARCADOR MOLECULAR DE LINFOMA DE CÉLULAS DEL MANTO**

*Autor/a/s:* Cabezas Fernández Sandra; Jimenez Laura; Martinez Sandra; Colomer Dolors

*Centro de trabajo:* Unitat d'Hematopatologia, Servei d'Anatomia Patològica, Centre de Diagnòstic Biomèdic (CDB) Hospital Clínic, Barcelona. Localidad: Barcelona

*Correo electrónico del primer firmante:* scabezas@clinic.ub.es

**Introducción:**

El linfoma de células del manto (LCM) es una neoplasia linfóide caracterizada por la proliferación de una población de linfocitos B maduros. La traslocación t(11;14) (q13;q32) es la principal característica genética de LCM. En esta traslocación el gen de la ciclina D1 ubicado en el cromosoma 11 queda bajo las órdenes del promotor de las inmunoglobulinas ubicado en el cromosoma 14, dando lugar a la sobreexpresión de ciclina D1. En la actualidad la expresión de ciclina D1 se analiza por inmunohistoquímica en tejido fijado e incluido en parafina. El diagnóstico de un LCM en sangre periférica o médula ósea, es difícil, si no se dispone de tejido.

Objetivo: Cuantificar la expresión de ciclina D1 mediante RT-PCR cuantitativa, para ver su utilidad en el diagnóstico de LCM en muestras de sangre periférica y médula ósea.

**Métodos:**

Se ha extraído RNA de 10 muestras de sangre periférica de leucemia linfática crónica y 25 muestras de tejido tumoral de LCM mediante Trizol y posteriormente se ha realizado la retrotranscripción (RT) y se ha amplificado mediante PCR cuantitativa utilizando una sonda comercial de ciclina D1 (ref Hs00765553\_m1 Applied Biosystems®).

Posteriormente se ha analizado la expresión de ciclina D1 en 215 casos de muestras obtenidas de sangre periférica y médula ósea de la unidad de hematopatología para la confirmación de diagnóstico de LCM o para discriminar la presencia de un LCM o una LLC atípica.

**Resultados:**

El rango de la expresión de ciclina D1 entre los 25 casos de LCM fue considerablemente más alto que en los de 10 casos de LLC. Se utilizó como calibrador las muestras de LLC y respecto a estas, los niveles de ciclina D1 en el LCM fueron de  $176,91 \pm 128,25$ . Posteriormente se han analizado 215 muestras de las cuales 101 fueron ciclina D1 positivas con una media de  $102,65 \pm 133,95$  y 114 fueron ciclina D1 negativas con una media de  $0,209 \pm 0,327$ . Hubo un 100 % de acuerdo en que los casos ciclina D1 positivos fueron diagnósticos de LCM.

**Conclusiones:**

La cuantificación de la expresión de ciclina D1 mediante RT-PCR cuantitativa es una prueba diagnóstica rápida y de gran utilidad clínica en el diagnóstico de LCM.

Existen diferentes aproximaciones metodológicas disponibles con un rendimiento variable en cuanto a sensibilidad y límite de detección de alelos KRAS mutados. En el presente estudio comparamos los resultados de dos series independientes de casos de CCR no seleccionados analizadas mediante diferentes técnicas.

**Material y métodos:**

Una primera serie de 123 casos no seleccionados de CCR sometidos a tratamiento quirúrgico con intención curativa en el Hospital Universitario de Elche entre los años 2003-2004, fueron analizados para las mutaciones de los codones 12 y 13 del gen KRAS mediante PCR y secuenciación directa del exon 1. El ADN del tejido tumoral en esta serie estaba criopreservado y no se realizó microdissección previa.

La segunda serie consta de 534 casos de CCR no seleccionados procedentes de los Hospitales Universitario de Elche (n=422) y Comarcal Vega Baja (n=112) incluidos entre los años 2008-2012. El ADN se extrajo del tejido tumoral incluido en parafina y microdisseccionado manualmente tras revisión por un patólogo. La técnica consiste en una reacción de PCR convencional donde se amplifica el exon 1 de KRAS que contiene los codones 12 y 13, seguida de una hibridación reversa de los productos de PCR biotinilados. Las sondas específicas para las mutaciones, así como los controles, se encuentran inmovilizadas en un soporte sólido. La visualización del resultado de hibridación se produce por reacción enzimática. El kit permite la detección de 10 mutaciones diferentes (8 del codón 12, y 2 del codón 13) (KRAS StripAssay, VienaLab).

El programa de aseguramiento de la calidad del laboratorio incluye los controles de calidad externos de intercomparación de la Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP).

**Resultados y Discusión**

En la serie 1 se detectaron un total de 40 tumores con mutación en KRAS (32.5%), 30 en el codón 12 (76%) y 10 en el codón 13 (24%). La serie 2 muestra 241 casos mutados (44.71%) con una distribución entre los codones 12 y 13 de 76.35% y 23.65%, respectivamente. La frecuencia según el tipo de mutación es similar a las descritas en las series más importantes donde G12D, G12V y G13D aparecen como las más frecuentes (30%, 26.4% y 22.3%, respectivamente).

Los resultados del estudio RASCAL II (Andreyev HJ et al, BJOC 2001) donde se incluyeron 3439 casos reflejan resultados muy similares a la serie 1, con un 35% de casos mutados, 75% y 25% de mutaciones en el codón 12 y 13 respectivamente. Las técnicas de detección actuales ofrecen una mayor sensibilidad situando la tasa de mutaciones alrededor del 40%.

**Conclusión:**

Nuestros resultados muestran una diferencia significativa en el porcentaje de tumores mutados entre ambas series (32.5% vs 44.71%), que puede estar influenciada por la diferencia de sensibilidad en el método de detección. Estas diferencias tienen importantes implicaciones en correcta selección de pacientes para el tratamiento con anti-EGFR.

**FRECUENCIA DE CÁNCER COLORRECTAL CON INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES EN POBLACION ESPAÑOLA Y PERUANA.**

*Autor/a/s:* Castillejo María Isabel, Barea María del Carmen, Castillejo Adela, Barberá Víctor Manuel, Egoavil Cecilia, Rufete Carmen, Montenegro Paola, García Bautista Miriam, Garrigós Noemí, Hernández-Illán Eva, García-Martínez Araceli, Alenda Cristina, Toro-Soto Paula, Gallego-Plazas Javier, Andrada Encarna, Ochoa Enrique, Soto José Luis.

*Centro de trabajo:* Hospital General Universitario de Elche. Localidad: Elche

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

**Introducción y objetivo:**

La pérdida de función en el mecanismo de reparación de los errores que se producen durante la replicación del ADN pueden provocar alteraciones en el tamaño de los microsatélites (secuencias simples repetidas en el ADN), fenómeno que se conoce como inestabilidad de microsatélites (IMS). Este fenotipo molecular está presente en el 15% de los cánceres colorrectales (CCR) no seleccionados (estudios de población de Norteamérica, centro y norte de Europa), así como en la práctica totalidad de los tumores del síndrome de Lynch. La presencia de IMS confiere un mejor pronóstico, así como un valor predictivo negativo de respuesta al recibir tratamiento adyuvante con fluoropirimidinas.

**VARIACIÓN SIGNIFICATIVA DE LA FRECUENCIA DE CASOS MUTADOS DE KRAS EN CÁNCER COLORRECTAL DEPENDIENDO DEL MÉTODO UTILIZADO: PCR-SECUENCIACIÓN VERSUS MICRODISECCIÓN, PCR E HIBRIDACIÓN REVERSA. EXPERIENCIA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE ELCHE.**

*Autor/a/s:* Castillejo María Isabel, Barea María del Carmen, Castillejo Adela, Barberá Víctor Manuel, Rufete Carmen, García Bautista M, Garrigós N, Hernández-Illán Eva, García-Martínez Araceli, Toro-Soto P, Gallego-Plazas Javier, Andrada Encarna, Soto José Luis.

*Centro de trabajo:* Hospital General Universitario de Elche. Localidad: Elche

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

**Introducción y objetivo:**

La presencia de mutaciones en el oncogen KRAS en cáncer colorrectal (CCR) es un factor de predicción de no respuesta en enfermedad avanzada frente a tratamientos anti-EGFR. En consecuencia, estos nuevos tratamientos solo están indicados en pacientes con tumores colorrectales con ausencia de mutaciones en KRAS (codones 12 y 13).

El objetivo del presente trabajo fue caracterizar la incidencia de CCR con MSI en dos series de casos de diferente origen: España y Perú.

### Material y métodos:

El total de casos de CCR no seleccionados y sometidos a tratamiento quirúrgico con intención curativa incluidos en el estudio fue de 647. La serie española comprende 557 casos; 357 del Hospital Universitario Elche y 200 del Hospital Provincial de Castellón. Los 90 casos de Perú procedían del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas de Lima.

El ADN fue extraído del tejido tumoral incluido en parafina y microdisecionado mediante punch asistido por la evaluación histopatológica de un corte teñido con hematoxilina-eosina por parte de un patólogo. La inestabilidad de microsatélites se llevó a cabo mediante PCR con marcaje fluorescente, electroforesis capilar y análisis de fragmentos de los cinco marcadores de microsatélites analizados: BAT26, BAT25; NR21, NR24; NR27. Los resultados fueron evaluados por dos observadores y el diagnóstico de IMS se consideró cuando al menos dos de los marcadores mostraban un patrón alterado de picos con respecto al normal.

Las variables de filiación sexo y edad al diagnóstico, y clínico-patológicas: localización y estadio tumoral fueron consideradas en el análisis de resultados.

### Resultados y Discusión:

La serie española presentaba una mediana de edad al diagnóstico de 70 años (rango 23-94), mientras que la edad en la serie peruana fue inferior: 60 años (rango 22-89). La frecuencia de CCR con IMS en nuestra serie española se sitúa en torno a 8,1% (45/557) mientras que la de Perú es significativamente superior 34,4% (31/90):  $p \leq 0.001$ . Estudios previos en España indican que efectivamente la IMS en CCR se sitúa entre un 8-10%. Los únicos datos publicados sobre IMS en Perú proceden de nuestro estudio (Egoavil C et al 2011). Factores ambientales como dieta y estilo de vida, además de las diferencias en la esperanza de vida entre ambas poblaciones podrían explicar estas diferencias. La distribución por sexos en ambas series fue de: 60,7% de varones en la española y 47,8% de varones en la peruana. La IMS ocurrió más frecuentemente en mujeres que en hombres ( $p \leq 0.001$ ). En la serie española la IMS se asocia a tumores con estadios más tempranos de la enfermedad (I y II):  $p = 0,027$ ; dicha asociación no resultó significativa en la serie peruana ( $p = 0,494$ ). Además, los tumores con IMS se localizaron predominantemente en colon proximal en ambas series ( $p \leq 0,001$ ). Estas asociaciones son características de este subtipo de CCR.

### Conclusión:

La IMS en CCR presenta una frecuencia significativamente variable dependiendo de la población a estudio: 8,1% versus 34,4% en las series españolas y peruanas respectivamente. Esta diferencia podría tener una trascendencia clínica importante tanto en el pronóstico de la enfermedad como en la estrategia terapéutica.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 185**

### VITRIFICACION DE OVOCITOS PARA PRESERVACION DE LA FERTILIDAD EN PACIENTES ONCOLÓGICAS

*Autor/a/s: Martínez Morales Mar, Galindo Mateu Noemí, Muela García Lorena, Gadea Navarro Blanca, Roldán Ramírez María Paz, Muñoz Cantero Manuel, Pérez Cano Inmaculada.*

*Centro de trabajo: IVI Alicante. Localidad: Alicante*

*Correo electrónico del primer firmante: MdelMar.Martinez@ivi.es*

### Introducción:

En la actualidad el cáncer afecta frecuentemente a mujeres en edad reproductiva. Gracias a los avances médicos la esperanza de vida es cada vez más elevada, no obstante la mayoría de estas pacientes van a ser sometidas a tratamientos de quimioterapia los cuales incluyen agentes gonadotóxicos (ciclofosfamida) que pueden ocasionar fallo ovárico precoz y esterilidad. Actualmente la reproducción asistida brinda la posibilidad de preservar la fertilidad a estas pacientes antes de ser tratadas, pudiendo así llegar a ser madres en el futuro una vez hayan superado la enfermedad. Existen diferentes métodos de preservación de la fertilidad: congelación de tejido ovárico, ooforopexia, maduración "in vitro" de ovocitos, vitrificación de ovocitos y congelación de embriones. Dado el éxito actual de la técnica de vitrificación de ovocitos se estima que es la forma más eficaz de preservar la fertilidad.

### Objetivos:

El objetivo de nuestro trabajo es presentar el estado actual de la preservación de la fertilidad en pacientes oncológicas en IVI Alicante.

### Material y métodos:

Desde el año 2007 al año 2013 acuden a la clínica IVI Alicante 12 pacientes para preservar la fertilidad después de ser diagnosticadas de algún tipo de cáncer (11 de ellas de cáncer de mama y 1 de Linfoma de Hodking).

La media de edad de estas pacientes fue de  $33,17 \pm 2,35^*$  años.

Finalmente, 3 de las pacientes no pudieron comenzar el ciclo de estimulación ya que debían someterse de forma inmediata a su tratamiento de quimioterapia por lo que sólo 9 de ellas fueron incluidas en nuestro programa de preservación de fertilidad. Para ello fueron sometidas a un proceso de estimulación ovárica controlada mediante el protocolo OKTAY con el fin de que los niveles de estradiol en sangre no aumentasen, ya que los cánceres que sufrían eran hormonodependientes. Una vez alcanzado el tamaño óptimo de los folículos, los ovocitos fueron recuperados mediante punción folicular para después ser vitrificados con la técnica KITAZATO y criopreservados en el Banco de Ovocitos del laboratorio de fecundación "in vitro".

### Resultados:

Tipo cáncer	Edad (n=9)	Estradiol (n=9)	Ovocitos totales (n=9)	Ovocitos vitrificados (n=9)
Mama	30	53	4	3
Mama	36	263	29	28
Mama	34	178	8	8
Mama	27	267	7	7
Mama	31	839	17	13
Mama	35	403	31	25
Mama	32	230	17	8
Mama	36	131	4	3
Mama	41	653	17	10
	$X = 33,56 \pm 2,68^*$	$X = 335,22 \pm 167,59^*$	$X = 14,89 \pm 6,61^*$	$X = 11,67 \pm 5,88^*$

(\*) error CI 95%

De estos casos sólo se han desvitrificado los ovocitos de una paciente. Debido a su edad los embriones obtenidos fueron sometidos a diagnóstico genético preimplantacional para realizar un screening de aneuploidías observándose alteraciones cromosómicas en todos sus embriones por lo cual no se pudo realizar la transferencia al útero materno.

### Conclusiones:

Gracias a los programas de preservación de la fertilidad las pacientes oncológicas tienen la posibilidad de ser madres en un futuro con sus propios ovocitos, siendo un aliciente más para superar la enfermedad.

Debido a los buenos resultados obtenidos con la vitrificación-desvitrificación de ovocitos podemos concluir que ésta es la técnica que más ventajas nos ofrece a la hora de preservar la fertilidad en este grupo de pacientes.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 194**

### COMPARACIÓN DE LOS PERFILES DE EXPRESIÓN DE MICRORNAS EN PLASMA VERSUS LAVADO BRONCOALVEOLAR EN PACIENTES CON DIFERENTES ENFERMEDADES RESPIRATORIAS

*Autor/a/s: Ricardo José Meléndez Cadenas. Rocío Suarez Beltrán. Ana Salinas Villegas*

*Centro de trabajo: Instituto de Biomedicina de Sevilla. Localidad: Sevilla*

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

### Introducción:

El descubrimiento de microRNAs ha puesto de manifiesto un nivel inesperado de regulación de expresión génica mediante la interacción con el ARN mensajero. Los microRNAs son pequeñas secuencias de ARN no codificantes, de aproximadamente 21 a 25 nucleótidos de largo cuya expresión puede variar según el

tipo de célula, tejido específico o estado de diferenciación. En su forma madura, los miRNAs se encuentran formando parte de complejos ribonucleoproteicos y ejercen su acción reguladora mediante la interacción de dicho complejo con el RNA mensajero diana. Como consecuencia se produce, bien la inhibición de la traducción (en el caso de apareamiento imperfecto entre miRNA y RNA mensajero) o bien el corte del RNA mensajero y su consiguiente degradación (en el caso de apareamiento perfecto o casi perfecto).

Se predice que los microRNAs son los reponsables de la regulación directa de la expresión de al menos el 30% de la totalidad de los genes humanos codificantes de proteínas. Así, los microRNAs desempeñan un papel fundamental en una amplia gama de enfermedades humanas incluyendo cáncer.

### Objetivos:

Comparación de los Perfiles de Expresión de los microRNAs en diferentes especímenes biológicos, concretamente en pellets de aspirado o lavado broncoalveolar y en plasma de un mismo paciente. Entrando en el estudio pacientes con diferentes enfermedades respiratorias.

### Material y métodos:

Se evaluó la expresión global de microRNAs de diez pacientes que habían requerido de broncoscopia flexible por razones de diagnóstico. Se recogieron la fracción celular broncoalveolar, y al mismo tiempo se recogió muestras de sangre periférica para obtener plasma.

El aislamiento del RNA que contienen los pequeños fragmentos de ARN se extrajo del plasma mediante el reactivo Trizol LS, y de la fracción celular broncoalveolar por el reactivo Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA). La concentración total de ARN se determinó utilizando un NanoDrop ND-1000 espectrofotómetro (Nanodrop Tech, DE, EE.UU.).

Los microRNA se analizaron mediante la técnica de qRT-PCR: Taqman Low Density Array y MegaPlex pools, usando la tecnología de Applied Biosystems (7900HT)., según las instrucciones del fabricante. Se utilizaron tarjetas multifluídicas que permitieron la detección de 381 microRNAs humanos, todos catalogados en la base de datos MIRBase.

La expresión de los microRNAs fue normalizado en relación con la expresión de miR-16. Se incluyó un microRNA no humano como control negativo que se llevó a cabo en cada experimento. Por último, las tarjetas fueron procesados y analizadas en un ABI Prism 7900 HT (Applied Biosystems, CA, USA).

### Resultados:

Solamente el 55% de los 381 microRNAs analizados se detectaron al menos en una de las muestras biológicas.

Por otro lado, nosotros identificamos que alrededor del 20% de microRNAs mostraron un patrón similar en ambos especímenes biológicos (plasma y fracción celular broncoalveolar).

### Conclusiones:

La identificación de biomarcadores en muestras con bajo grado de invasividad mejoraría los actuales procedimientos empleados para el diagnóstico de diversas enfermedades pulmonares y respiratorias.

En resumen, este es el primer estudio que describe la comparación de los patrones de microRNA entre el plasma y la fracción celular broncoalveolar en el mismo paciente. Llegamos a la conclusión de que existe una fracción de microRNAs (15-28%), que se observan comúnmente en ambas muestras.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 195**

## IMPORTANCIA DE LA PRUEBA ONCOTYPE COMO PREDICTOR GENÉTICO DEL CÁNCER DE MAMA

*Autor/a/s: Ricardo José Meléndez Cadenas. Ana Salinas Villegas. Rocío Suarez Beltrán.*

*Centro de trabajo: Instituto de Biomedicina de Sevilla. Localidad: Sevilla*

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

### Introducción:

El carcinoma mamario es el cáncer más frecuente en mujeres, y es el cáncer más común, tanto en los países desarrollados como en aquellos en vías de desarrollo.

Su incidencia varía de 19,3 por 100.000 mujeres en África oriental a 89,9 por 100.000 mujeres en Europa occidental, y la incidencia más alta se encuentra en los países desarrollados, excepto Japón. La incidencia mundial del carcinoma mamario ha aumentado en las últimas cuatro décadas, pero la mortalidad ha permanecido estable o disminuido ligeramente, tal vez porque los métodos de detección más efectivos permiten un diagnóstico más temprano, con mayores posibilidades de curación.

Es evidente que durante las últimas tres décadas han ocurrido avances significativos en la comprensión de los mecanismos implicados en el desarrollo y la evolución del cáncer mamario, lo que ha hecho posible desarrollar nuevos tratamientos quirúrgicos, farmacológicos y de radioterapia y quimioterapia.

No obstante, todavía no han resuelto las preguntas sobre cuál es la combinación óptima de medicamentos, ni por cuánto tiempo se deben administrar. Aun cuando la terapia adyuvante ha mejorado ostensiblemente el período libre de enfermedad y la supervivencia total, todavía no se puede predecir si una paciente va a recaer o se va a beneficiar de la terapia adyuvante y, tal vez, una gran mayoría de las pacientes reciben terapia innecesaria.

La necesidad de seleccionar mejor las pacientes para terapia adyuvante es reconocida desde hace mucho tiempo. Hasta recientemente, los únicos factores de pronóstico validados en cáncer mamario habían sido el compromiso de los ganglios linfáticos, el tamaño del tumor, la edad, el índice de proliferación, los receptores hormonales y la expresión del HER-2/neu (Human Epidermal Growth Factor Receptor-2). Estos marcadores pueden usarse para estimar el riesgo de recurrencia; además de los factores mencionados, se añaden la aneuploidía y una alta fase-S de división celular, que están generalmente asociadas con receptores negativos. Los tumores diploides presentan una recurrencia de 12% a cinco años, en tanto que en los aneuploides ésta es de 26%. También confieren peor pronóstico los niveles elevados de cathepsina-D (28). Estos marcadores pueden usarse para estimar el riesgo de recurrencia, pero los factores predictores son útiles para predecir el beneficio del tratamiento e incluyen: estado de receptores de estrógenos y progesterógenos, HER-2/neu y Oncotype DX.

Oncotype DX® es una prueba de 21 genes que determina el riesgo de recurrencia a diez años, en pacientes con tumores positivos para ER, desarrollado por Genomic Health Inc. Como no todas las mujeres se benefician de la quimioterapia, el Oncotype DX® es una prueba que ofrece una predicción individualizada del beneficio de la quimioterapia y las recidivas a 10 años, para tomar una decisión sobre la terapia adyuvante en ciertos casos de cáncer mamario.

### Objetivos:

Argumentar si tiene indicaciones el Oncotype DX® para su uso en la práctica clínica y si se ha demostrado su validez en algunos estudios clínicos

### Material y Métodos:

Para realizar esta prueba se utiliza tejido del carcinoma mamario incluido en bloques de parafina, o bien laminillas montadas en cristales de inmunohistoquímica de donde se realiza la extracción de ARN y se aplica la transcriptasa reversa, con la obtención de un ADN complementario (cADN) que es posteriormente sometido a reacción en cadena de la polimerasa (PCR), donde la expresión de cada gen es medido en triplicado y luego, de acuerdo a los cinco genes de referencia, son «normalizados». A continuación, con un procedimiento estandarizado mediante fórmulas computarizadas, se mide el índice de recurrencia (RS: Recurrence Score), cuyos valores van del 0 al 100. Las pacientes se clasifican en tres grupos, el primero incluye las que presentan un índice de recurrencia menor a 18 (riesgo bajo), un grupo con índice de recurrencia entre 18 y 30 (riesgo intermedio) y el tercer grupo con índice de recurrencia mayor o igual a 31 (riesgo alto). Los 21 genes utilizados en la prueba de Oncotype DX® fueron seleccionados de un total de 250 genes estudiados en el carcinoma de mama, mediante tres distintos estudios, en los que los genes que presentaron mayor periodicidad e intensidad de expresión fueron los seleccionados. Es así que el Oncotype DX® evalúa 16 genes funcionales o relacionados al carcinoma y cinco genes de referencia.

### Resultados:

De acuerdo al grupo de riesgo la probabilidad de recurrencia a los 5 años es de 2.1, 9.2 y 22.1%, y de 6.8, 14.3 y 30% a los diez años, en los grupos de bajo, intermedio y alto riesgo, respectivamente. Además, se pudo ver que en las pacientes que recibieron solamente tamoxifeno, el grupo de alto riesgo tuvo un porcentaje de recurrencia a los 10 años de 38.3%, el grupo de riesgo intermedio de 17.8% y el de bajo riesgo de 3.7%. En cambio las enfermas que recibieron combinación de tamoxifeno y quimioterapia tuvieron una recurrencia de 11.1, 10.1 y 5.0% en los grupos de alto, intermedio y bajo riesgo, respectivamente. Estos datos permiten concluir que las pacientes del grupo de bajo riesgo se benefician únicamente con



el tratamiento hormonal, ya que no presentaron mejoría en el tiempo de recurrencia si se asoció con quimioterapia. En cambio, en el grupo de riesgo alto, el mayor beneficio se obtuvo con la asociación de tratamiento hormonal y quimioterapia. El grupo problema es el intermedio, en el que el uso adicional de quimioterapia no demostró datos estadísticos significativos ni suficientes para su implementación.

### Conclusiones:

Algunos estudios han demostrado que los resultados del Oncotype DX han ayudado a modificar los planes terapéuticos en 30% a 40% de los casos.

Las pruebas genéticas son una ayuda importante para ofrecer una terapia más individualizada a cada paciente, pero todavía existen interrogantes por resolver, tales como las limitaciones por la tecnología necesaria, porque se requiere de unas instalaciones muy sofisticadas para realizar las pruebas, que no están disponibles en todo laboratorio de patología.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 205

### CULTIVO CROMOSÓMICO E INTERLEUKINA-2 EN LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÓNICA

*Autor/a/s: Carmen Villena Permanyer, Encarnación Santafé Collado, Diana Domínguez Domínguez, Ismael Varela Tang, Neus Ruiz Xivillé, Isabel Granada Font, Fuensanta Millá Santos.*

*Centro de trabajo: ICO-BADALONA, HOSP Germans Trias i Pujol, IJC. Localidad: BADALONA*

*Correo electrónico del primer firmante: cvillena@iconcologia.net*

### Introducción:

Los análisis citogenéticos para la Leucemia Linfocítica Crónica (LLC) muchas veces han sido limi-

tados por la incapacidad de obtener células en metafase y fiables para el análisis.

Se ha demostrado que con la estimulación de citoquinas se puede mejorar el análisis de la metafase

en anomalías citogenéticas de LLC.

### Objetivos:

Comparar la eficacia de dos agentes mitógenos en cuanto el porcentaje de cariotipos alterados: Phorbol 12-Myristate 13-Acetate (TPA) e Interleukina-2 (IL-2).

### Material y métodos:

Se han realizado dos cultivos celulares estimulados con TPA e IL-2 en 20 muestras de pacientes con diagnóstico de LLC.

### SEMBRADO DE LA MUESTRA:

Se recibieron 4 mL de sangre periférica con Heparina Lito. Se realizó un recuento celular y se procedió al cultivo: la concentración final fue entre 2-3 x10<sup>6</sup> células por mL de cultivo. Se incubó a 37°C y 5% CO<sub>2</sub> durante 72 horas.

Reactivos utilizados:

ESTIMULACIÓN CON TPA	ESTIMULACIÓN CON IL-2
- 75% de RPMI1640	- 75% RPMI1640
- 2,5% de Glutamina	- 2,5% de Glutamina
- 2,5% de Penicilina – Streptomicina	- 2,5% de Penicilina-Streptomicina
- 1% de Heparina Sódica	- 1% de Heparina Sódica
- 20% de Suero Bovino Fetal	- 20% de Suero Bovino Fetal
- 50µL de TPA (cultivo de 5mL)	- 1 mL de IL-2 (cultivo de 10mL)
	- 10µL de Cromolympho B (cultivo de 10mL)

PROCESADO DE LA MUESTRA: Pasadas las 72 horas se añadió colcemid (anti-mitótico), 150µL durante 2 horas a 37°C en el cultivo de TPA, y 150 µL durante 1 hora a 37°C en el cultivo de IL-2

Se recogió la muestra en un tubo cónico y se centrifugó a 1750 rpm durante 10 minutos. Se aspiró el sobrenadante, se resuspendió el botón celular y se añadió el choque hipotónico (CIK 0,075M). Se dejó actuar durante 25-30 minutos a 37°C. Se realizaron 3 fijadores (ácido acético/metanol 1:3). Con el pellet final se realizaron las extensiones a mano alzada y se tiñeron según el patrón de bandas G.

### Resultados:

De los 20 casos estudiados se pudo observar que tanto los cultivos estimulados con TPA como los estimulados con IL-2 tenían una proliferación similar.

Sin embargo en cuanto a las alteraciones se pudo observar que había un aumento de alteraciones clonales en 13 de los casos estimulados con IL-2 respecto a los 7 que se estimularon con TPA (65% vs 35%).

### Conclusiones:

En los estudios realizados con IL-2 se detectaron mayor número de anomalías cromosómicas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 206

### VARIANTES ATÍPICAS DEL SÍNDROME DE RETT: MUTACIONES EN LOS GENES CDKL5 Y FOXG1.

*Autor/a/s: Gerotina Mora, Edgar; Rabaza Gairí, Marc; Brandi Tarrau, Nuria; Quandt Herrera, Eva;*

*Roche Martínez, Ana; O'callaghan Gordo, Mar; Pineda Marfa, Merce; Armstrong Morón, Judith.*

*Centro de trabajo: Hospital Sant Joan de Deu. Localidad: Esplugues (Barcelona)*

*Correo electrónico del primer firmante: egerotina@tsjd.org*

### Introducción:

El Síndrome de Rett (RTT) es un trastorno del neurodesarrollo de inicio precoz, y que afecta casi exclusivamente a niñas. El RTT es una enfermedad causada por mutaciones de novo en los genes: MECP2, CDKL5 y FOXG1.

Objetivo:

Detectar las mutaciones en los genes CDKL5 y FOXG1 en las variantes atípicas de RTT.

### Materiales y métodos.

Los pacientes con diagnóstico clínico RTT, se ha realizado el estudio genético del gen MECP2 mediante secuenciación directa y MLPA. Los pacientes sin mutación detectada en éste gen, y dependiendo de la presentación clínica, se les ha realizado el estudio de los genes CDKL5 y FOXG1, mediante secuenciación y MLPA, y en algunos casos CGHarray. Para las mutaciones detectadas con secuenciación se ha estudiado el núcleo familiar y se ha comparado con controles en población normal para discernir entre mutación y polimorfismo. Para las deleciones detectadas por MLPA y/o CGHarray se han determinado los puntos de ruptura de éstas.

### Resultados.

Se ha detectado 13 pacientes con mutación en el gen CDKL5, 11 mutaciones puntuales y 2 grandes deleciones. Todos los pacientes cumplían los criterios clínicos para el estudio del gen CDKL5, y representan el 10% de detección de mutación en este gen para RTT.

El estudio del gen FOXG1 ha permitido detectar 7 mutaciones puntuales y 3 grandes deleciones en pacientes con presentación clínica RTT variante congénita.

### Conclusión.

Aunque el diagnóstico del RTT es realizado por criterios clínicos, el diagnóstico genético es también fundamental para poder caracterizar a los pacientes, seguir su evolución, o en un futuro, poder aplicar tratamientos personalizados o de terapia génica.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 227

### ESTUDIO EN UN CENTRO DE LA RENTABILIDAD CLINICA DE LA DETERMINACION DE LA MUTACION JAK2 ESTUDIADA EN PACIENTES CON SOSPECHA DE SINDROME MIELOPROLIFERATIVO CRONICO

*Autor/a/s: DOLORES GARCIA RODRIGUEZ, CONSUELO LAPUEBLA VIEL, Mª DEL PATROCINIO MONGE CAMACHO, CARMEN COUTO*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE VALME. Localidad: SEVILLA*

*Correo electrónico del primer firmante: LOGARO25@YAHOO.ES*



## Introducción:

La asociación de la mutación del gen JAK2 (V617F) en pacientes con alta sospecha de sindromemieloproliferativo crónico, se describió en el año 2005, a partir de entonces muchos laboratorios especializados con técnicas de biología molecular lo incluyeron como un parámetro mas para completar y diagnosticar este tipo de enfermedades. El JAK2 es una mutación adquirida que aparece en el 74-97% de pacientes con Policitemia Vera(PV),29-57%de los pacientes conTrombocitemia Esencial (TE), por lo que su presencia,hoy día, se considera diagnostica de estas patologías.

## Objetivos:

El objetivo de este estudio es realizar un análisis descriptivo de la pre valencia de la mutación y la rentabilidad de la determinación del JAK2 en función de los parámetros analíticos analizados y patologías asociadas.

## Pacientes y metodos:

Durante los años 2011-2012, se realizaron 56 determinaciones de JAK2 por técnicas de biología molecular. Se estudiaron 56 pacientes con edades entre 18-91 años (mediana:59), y relación hombre/mujer :34/22.

Los pacientes fueron remitidos desde la consulta externa de hematología con sospecha de hemopatía maligna tipo síndrome mieloproliferativo crónico, por lo que los estudios se solicitaron en función de la sospecha clínica y basándose en parámetros analíticos básicos :Hemoglobina (Hb) >18g/dl en hombres y >16g/dl en mujeres y/o cifras de plaquetas > 400000 / mm. /o leucocitos >10.000/mm.

Los parámetros analíticos básicos se realizaron con un contador hematimétrico (SYSMEX-XT 4000i Roche) la detección de la mutación somática de JAK2 (V617F) expón 14 se realizo en ADN de sangre periférica, mediante una técnica automatizada Magnapure (ROCHE). Posteriormente se realiza una reacción en cadena de polimerasa (PCR) en fase líquida a tiempo real adaptada a Termociclador Ligthcycler (ROCHE).

Nosotros hemos analizado los parámetros analíticos global mente y por separado en relación a la presencia de la mutación JAK2.

## Resultados:

Los resultados se muestran en la tabla 1

Tabla1

	Hombres N=34 / %		Mujeres N=22 / %		Total N=56 / %	
Hemoglobina	2	5.8%	1	4.5%	3	5.3 %
Plaquetas	6	17 %	8	36 %	14	25 %
Leucocitos	5	14%	2	9 %	7	12.5 %
Hb + Plaquetas	3	8%	1	4.5 %	4	7 %
Hb + Leucocitos	4	11%	2	9 %	6	10 %
Plaquetas + Leucocitos	5	14%	4	18%	9	16 %
Total	25	73%	18	81%	43	76 %

## Conclusiones:

Todos los enfermos que resultaron positivos se confirmo la sospecha clínica de síndrome mielo proliferativo crónico.En el estudio destacamos un alta rentabilidad en la determinación de JAK2 en pacientes seleccionados, tanto global mente como cuando se selecciona por parámetros analítico individuales, siendo en nuestro caso el mas influyente las cifras de plaquetas. Es una técnica fácil y accesible en un laboratorio básico de biología molecular.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 230

## ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LAS MUTACIONES DE EGFR EN CÁNCER DE PULMÓN NO MICROCÍTICO EN EL SUR DE LA PROVINCIA DE ALICANTE.

Autor/a/s: Castillejo María Isabel, Barea María del Carmen, Castillejo Adela, Barberá Víctor Manuel, Hernández-Illán Eva, García-Martínez Araceli, Rufete Carmen, Martínez-Banaclocha Natividad, Andrada Encarna, Soto José Luis.

Centro de trabajo: Hospital General Universitario de Elche. Localidad: Elche

Correo electrónico del primer firmante: micastillejo@gmail.com

## Introducción y objetivo:

Las mutaciones del gen que codifica el receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR) en cáncer de pulmón no microcítico son un factor de predicción de respuesta frente a terapia con anti-EGFR. Las mutaciones se localizan fundamen-

talmente en los exones 18-21 del gen EGFR. La gran mayoría tienen un efecto sensibilizador al tratamiento y sólo una pequeña proporción producen resistencia.

Se presenta un análisis descriptivo de las mutaciones de EGFR en nuestro entorno y su comparación con lo descrito en la bibliografía.

## Material y métodos:

En el estudio se incluye una serie consecutiva de 96 pacientes con diagnóstico de cáncer de pulmón no microcítico atendidos en los servicios de Oncología Médica del Hospital Universitario de Elche y Hospital Comarcal Vega Baja entre Enero de 2011 y Febrero de 2013. El tejido tumoral incluido en parafina correspondía a biopsias pulmonares, bronquiales o metastásicas. Cinco cortes de cinco micras fueron microdisecccionados manualmente tras la evaluación por un patólogo. El ADN se extrajo utilizando kits de alto rendimiento. El análisis de mutaciones se llevó a cabo mediante PCR y secuenciación de los exones 18-21. El resultado fue evaluado por dos observadores independientes.

El programa de garantía de la calidad del laboratorio incluye los controles externos de intercomparación de la Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP) y la European Molecular Genetics Quality Network (EMQN).

## Resultados y Discusión:

Un caso no pudo ser analizado con éxito debido a insuficiente cantidad y/o calidad del ADN. Se detectaron mutaciones en once tumores. Todas las mutaciones detectadas están asociadas a sensibilidad al tratamiento anti-EGFR. La distribución por exones fue una mutación en el 18; ocho en el 19; ninguna en el 20 y dos en el 21. Todas estas frecuencias no difieren significativamente de las publicadas para la población occidental. La metodología utilizada en la mayor parte de la bibliografía a este respecto, es PCR en tiempo real o hibridación reversa en soporte sólido, ambos métodos a priori, presentan una mayor sensibilidad y límite de detección que la secuenciación en la detección de mutaciones conocidas.

Se detectó una variante en el exón 18 no descrita, cuyo significado predictivo es desconocido (c.2127\_2129delAAC; p.Glu709del)

Los controles de calidad externos fueron superados con éxito.

## Conclusión:

El diagnóstico de mutaciones de EGFR por secuenciación, asistido por microdissección y extracción de ADN de alto rendimiento, puede ofrecer niveles de detección similares a otras técnicas a priori más sensibles, resultando más coste-eficaz.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 248

## LA RELACIÓN ENTRE EL POLIMORFISMO 428G/A DEL GEN FUCOSILTRANSFERASE 2 (FUT2) Y LA PREDISPOSICIÓN A LA INFECCIÓN URINARIA

Autor/a/s: Andreia Silva<sup>1</sup>, Diana Rocha<sup>1</sup>, Fernando Mendes<sup>1</sup>, Amélia Pereira<sup>2</sup>, Ana Borges<sup>2</sup>, Élio Rodrigues<sup>2</sup>, João Figueiredo<sup>3</sup>, Armando Caseiro<sup>1</sup>, Ana Valado<sup>1</sup>, António Gabriel<sup>1</sup>, Nádía Osório<sup>1</sup>

Centro de trabajo: 1 Departamento de Análisis Clínicos y de Salud Pública; Coimbra Health School, Portugal, 2 Servicio de Medicina Interna del Hospital de Distrito de Figueira da Foz, 3 Deapratmento de Ciências Complementares, Coimbra Health School. Localidad: Coimbra

Dirección del primer firmante: Escola Superior de Tecnologia da Saude de Coimbra

Correo electrónico del primer firmante: fjmendes@estescoimbra.pt

## Introducción:

El perfil de los gliconjugados resulta de la acción integrada de los genes FUT2 y ABO. Aproximadamente 20% de la población mundial es no secretora, debido a la presencia de polimorfismos en el gen FUT2, siendo muy común la mutación nonsense 428G/A. Esta mutación codifica un codón stop en la posición 143 (Trp-Ter), produciendo una enzima FUT2 no funcional cuando en homocigotía. Varios estudios han asociado el status secretor/no secretor como factor predisponente a la infección urinaria. En el presente estudio se evaluará la presencia del polimorfismo 428G/A y la predisposición para la infección urinaria.

## Material y métodos:

La población estudiada implica muestras de sangre total recogidas de 39 individuos con historia de infección urinaria y 26 individuos control. Para el análisis del

polimorfismo 428G/A en el gen FUT2, después de la extracción de ADN, este fue amplificado por PCR con posterior digestión por la enzima Aall (RFLP).

#### **Resultados:**

En el presente estudio 55 individuos fueron genotipados como secretores y 10 como no secretores, o que refleje un porcentaje de 15,4% de homocigóticos mutados. El perfil genotípico ha revelado un mayor predominio del genotipo normal heterocigótico (GA) con 56,9%, siguiendo el perfil normal homocigótico (GA) con 27,7% y, por último, el homocigótico mutado (AA) con 15,4%. El riesgo de infección asociado al genotipo AA es bajo.

#### **Discusión y Conclusión:**

Se ha estudiado la presencia de los diferentes genotipos del polimorfismo 428G/A y se han asociado a los individuos con 1, 2, 3 o más infecciones urinarias y se han comparado con individuos control, sin diferencias significativas ( $p$  value = 0,428). Sin embargo, se ha verificado una tendencia para individuos sin infección presentaren el fenotipo no secretor. Ninguno de los perfiles de glicoconjugados ABH expresos en el tracto urinario codificados por los genes FUT2 y ABO están asociados a la presencia o ausencia de infección. El polimorfismo 428G/A no se encuentra relacionado con la predisposición para la infección urinaria.

#### **Palabras-Clave:**

FUT2, polimorfismo 428G/A, glicoconjugados ABH, infección urinaria.

# HEMATOLOGÍA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 001

## CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA BETA-TALASEMIA EN EL NORTE DE GALICIA

Autor/a/s: MARIA JESÚS COUSELO NOYA, JOSÉ CARLOS FERNÁNDEZ LAGO, JOSE LUIS NÚÑEZ AMBOAJE, JULIA CARNERO PEREIRO

Centro de trabajo: COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO A CORUÑA. Localidad: A CORUÑA

Correo electrónico del primer firmante: MARIA.JESUS.COUSELO.NOYA@SER-GAS.ES

### Introducción:

La Beta talasemia heterocigota es una alteración relativamente frecuente en España y está caracterizada por un aumento de la Hemoglobina A2 al no sintetizarse o verse reducida la producción de cadenas Beta globina.

### Objetivos:

Hacer un estudio de las distintas mutaciones detectadas en nuestra Área Sanitaria y compararlas con el resto de estudios publicados. ( Portugal , Lanzarote, Andalucía, etc.)

### Material y métodos:

El estudio molecular del gen de la Beta globina se llevó a cabo en tres fases:

1º Extracción de ADN (Kit Quiamp DNA blood)

2º Amplificación de ADN mediante PCR con Tac polimerasa ( Termociclador analytikjena)

3º Hibridación del ADN amplificado (B-globin Stripassay Vienna Lab)

### Resultados:

De un total de 212 mutaciones, los porcentajes observados son los siguientes:

CODÓN 39: 38.7 %; IVS 1.6: 21.7%; IVS 1.110: 10.4%; CODÓN 15: 6.6%;

IVS 1.1: 5.2%; 101: 2.7%; IVS 1.5: 2.3%; IVS 2.745 1.8%.

### Conclusiones:

En comparación con el resto de estudios observamos un dato común, que es un porcentaje elevado del Codón 39. Como dato diferencial destacamos un porcentaje más elevado de la mutación IVS 1.6 y un menor porcentaje de IVS 1.1 que en el resto de estudios publicados.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 009

## REACCION TRANSFUSIONAL EN EL AREA DE GESTION SANITARIA NORTE DE HUELVA.

Autor/a/s: Garcia Vela, Jose H., de Baya Muriel, Sonia.

Centro de trabajo: Hospital General de Riotinto. Localidad: Minas de Riotinto

Correo electrónico del primer firmante: jhgvela@yahoo.es

### Resumen:

La transfusión de componentes sanguíneos generalmente es una práctica segura y efectiva que corrige el déficit hematológico, pero en ocasiones tiene consecuencias nocivas que pueden llevar a complicaciones potencialmente serias con riesgo de la integridad física del paciente. Los efectos adversos de la transfusión sanguínea pueden ser inmediatos o tardíos y a su vez, reacciones inmunológicas y no inmunológicas.

El objetivo de este trabajo es el conocimiento de los principales riesgos, de que naturaleza y si se hubiesen podido evitar, las medidas a adoptar y su evolución en el periodo de tiempo del estudio, en nuestra Área de Gestión.

### Material y método:

Se trata de un estudio descriptivo, de carácter retrospectivo desde enero de 2007 hasta diciembre de 2011, en el que se analizan las reacciones transfusionales, en pacientes que han necesitado una transfusión en el Hospital General de Riotinto perteneciente al Área de Gestión Sanitaria Norte de Huelva.

Fueron realizadas un total de 13052 pruebas cruzadas de pacientes procedentes de Hospitalización y del servicio de Urgencias, de ambos sexos y todas las edades, con necesidades de transfusiones sanguíneas diversas (intervenciones quirúrgicas, traumatismos, enfermos oncológicos...); de las cuales se procedió a realizar la transfusión en un total de 11046 pacientes.

Las restantes, una vez pasado el plazo de reserva se descruzaron por no ser necesaria su administración.

En todas ellas se lleva a cabo el mismo proceso de actuación, desde la recogida de la muestra hasta la administración del componente al paciente.

### Resultados:

Durante el periodo de estudio se realizaron 13052 pruebas cruzadas, procediendo a la transfusión de los hemoderivados en un total de 11046 pacientes. De todas las transfusiones realizadas, en el año 2007 se observan 4 (0.036%) reacciones transfusionales, 1 se considera "casi incidencia", (error en algún lugar de la cadena transfusional), y 3 cursan con reacción febril e hipotensión.

En 2008 se producen 2 (0.018%), 1 se considera "casi incidencia" y otra cursa con reacción febril.

En 2009 se producen 11(0.099%) de la cuales 4 son "casi incidencia", 2 cursan con shock anafiláctico, 1 con TRALI (edema agudo de pulmón no cardiogénico) y 4 con reacción febril.

En 2010 se producen 3 (0.027%) y todas ellas con reacción febril.

En 2011 hay 3 (0.027%) reacciones, 2 por transfusión incorrecta de componentes y 1 por enfermedad infecciosa no vírica.

### Discusion:

Podemos concluir que una parte importante del éxito en una transfusión sanguínea, radica en la correcta praxis a la hora de realizar dicho proceso, desde la recogida de la muestra hasta la correcta identificación del paciente y la realización de la técnica.

Una parte de las reacciones transfusionales que se producen son debida a factores ajenos a la transfusión, como aparición de fiebre por infecciones secundarias intercurrentes.

Debemos de aunar esfuerzos y considerar como algo fundamental la prevención de todos los factores que pueden influir durante el proceso transfusional, con objeto de asegurar la trazabilidad en todo momento, mediante la actuación correcta, la aplicación de métodos y protocolos previamente establecidos y la unificación de criterios de todo el personal vinculado. Todo ello hará posible minimizar los riesgos inherentes a la transfusión sanguínea y se podrá alcanzar un nivel de seguridad elevado e imprescindible para el correcto funcionamiento de dicho procedimiento.

Después de realizadas todas las pruebas, es recomendable analizarlas, comparar los resultados encontrados en las muestras previas y las posteriores a la transfusión, reportar los resultados por consenso y proponer recomendaciones para mayor seguridad del paciente en futuras transfusiones. Todas estas actuaciones se llevan a cabo a través de las normas establecidas por el Comité hospitalario de transfusión.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 026

## AUTO ANTI-E EN RECIÉN NACIDO PROCEDENTE DE MADRE CON ESCRUTINIO DE ANTICUERPOS IRREGULARES NEGATIVO

Autor/a/s: Rodríguez Fuentes, María Teresa; López Rodríguez, Oliva

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

Correo electrónico del primer firmante: mariateresa.rodriguez.fuentes@terra.es

### Introducción:

La mayoría de los Coombs Directos positivos en recién nacidos son producto de incompatibilidad ABO, pero existe un porcentaje de casos en los que es difícil determinar la causa del mismo. La particularidad de este caso es que no sólo presenta una incompatibilidad ABO, sino también un auto anti-e procedente de la

madre que en el momento del estudio presenta coombs directo negativo y escrutinios de anticuerpos irregulares también negativos.

### Objetivos:

Determinar el origen del coombs directo positivo del recién nacido.

### Material y métodos:

Para nuestro estudio la técnica utilizada fue la de determinación de de anticuerpos irregulares en fase de antiglobulina humana. Para ello hemos empleado: tarjetas de Rh-Subgrupos +kell, tarjetas de grupo ABO/D, ABO/Rh recién nacido, poliespecíficas LISS-COOMBS y solución LISS de Bio-Rad®.

El eluido se realizó según la técnica de elución ácida de Inmucor®, producto Gamma Elu-Kit ©II.

El estudio de anti-A y anti-B inmunes fue realizado empleando tarjetas IgG poliespecíficas de Ortho Clinical Diagnostics®

### Resultados:

Confirmamos la presencia de incompatibilidad ABO y detectamos un auto anti-e en el eluido del niño y de la madre, que es el que, atravesando la barrera placentaria, se fija en el recién nacido.

Se cruzan los hematíes de la madre con el eluido del niño y el resultado es NO COMPATIBLE.

### Conclusión:

El recién nacido estudiado presenta un Coombs Directo positivo producido tanto por incompatibilidad ABO, como por un auto anti-e procedente de la madre puesto de manifiesto por el estudio de sus hematíes.

Deducimos que durante el embarazo la madre presentó coombs directo positivo con presencia de autoanticuerpo en el suero que atravesó la barrera placentaria ligándose a los hematíes del recién nacido.

El niño no presentó cuadro hemolítico posiblemente porque la incompatibilidad ABO, tal como describen múltiples artículos, compensó en parte la hemólisis producida por el auto anti-e.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 030

### SEGUIMIENTO DEL PROCESO DE REDUCCIÓN DE PATÓGENOS EN PLAQUETAS

*Autor/a/s:* García Nieto, M<sup>a</sup> Soledad/Dopico Veiga, Eva/Delgado Vega,Azucena/Rodríguez Carreira, Fernando/Prado Riveiro, Silvia/Vázquez Castro, Marcos/Carrillo Guerra, David/Barco Santos, Teresa/López Lemos, M<sup>a</sup> José/Arcas Otero, Carina/Castrillo Fernández, Azucena

*Centro de trabajo:* Centro de Transfusión de Galicia. *Localidad:* Santiago de Compostela

*Correo electrónico del primer firmante:* marisol.garcia.nieto@sergas.es

### Introducción:

Para afrontar el riesgo microbiológico en la transfusión, podemos emplear técnicas de inactivación o reducción de patógenos (IP/RP), las cuales ya se están aplicando en el plasma desde hace años y más recientemente en plaquetas; para hematíes están en una fase avanzada de investigación. Estos tratamientos inciden selectivamente sobre los potenciales patógenos, ya que actúan sobre ácidos nucleicos (AN), ausentes en plaquetas y hematíes. Los procesos de inactivación o reducción de patógenos (IP/ RP) tienen por objeto inactivar virus, bacterias y parásitos presentes en los componentes sanguíneos (CS), que pueden tener efectos nocivos en el receptor de la transfusión, sin comprometer su eficacia terapéutica ni causar efectos adversos.

El control de los procesos que se aplican a los CS, es muy importante para asegurar el objetivo que se persigue y que los CS mantengan sus características en riqueza y funcionalidad de forma constante. Hemos estudiado algunos aspectos en relación con el proceso de RP en plaquetas.

### Material y Métodos:

En el CTG se implantó en rutina, en el año 2008, el tratamiento con Intercept™ (amotosaleno+ UVA) para plaquetas procedentes de aféresis y de sangre total (5 capas leucoplaquetares o buffy coats para formar CPM). En la aplicación del tratamiento se cumplen los requerimientos establecidos: ratio de solución aditiva (SA)/ plasma de 65/35, rango de volumen, contenido de hematíes, la dosis mínima de plaquetas para proceder al tratamiento la establecimos en un mínimo de 2.7x10<sup>11</sup>. Se analizan el número de procesos evaluados en el año 2011 y 2012, datos de

volumen y riqueza pre y post-inactivación. Los recuentos celulares se obtuvieron en el analizador Sysmex XT-2000i. El valor del pH al 7º día, se llevo a cabo en algunas unidades con el micro pHmetro 2001 Cryson.

### Resultados:

Los datos obtenidos, se reflejan en la tabla adjunta. Todos los componentes tuvieron menos de 1x10<sup>6</sup> leucocitos, determinados por citometría.

	PRE - Intercept		POST - Intercept				C. Plaquetas - Tratado (final)	
	Volumen	PQ x10 <sup>11</sup>	Volumen	PQ x10 <sup>11</sup>	% pérdida volumen	% pérdida PQ	unidades ≥3x10 <sup>11</sup>	unidades <2.5x10 <sup>11</sup>
<b>*CPM (5BC)</b>								
Año 2011 N= 432	357±17	3.7±0.4	332±17	3.4 ±0.4	7±2	8.1 ±3.8	89%	0.2%
Año 2012 N=430	364±16	3.7±0.4	336±16	3.4 ±0.4	7.6 ±2.3	8.6 ±4.6	88.4%	0 %
<b>Atéresis</b>								
Año 2011 N=360	303±15	3.4±0.4	282±15	3 ±0.4	7 ±2.5	10.8 ±7.5	55.3%	6.4%
Año 2012 N=368	303±9	3.4±0.4	281±11	3 ±0.4	7.4 ±2.3	10.3 ±8.6	53.5 %	7%

\*CPM= Concentrados de plaquetas mezcla.

### Conclusión:

En nuestra experiencia el control continuo del proceso nos permite ofrecer un producto estandarizado, y los resultados son consistentes a lo largo del año.

El aumentar el periodo de almacenamiento a 7 días tiene importantes ventajas logísticas y disminuye el índice de caducidad. Con el tratamiento con Intercept™ eliminamos la radiación gamma.

Consideramos que es importante tener una riqueza ≥ 3.5x10<sup>11</sup> de plaquetas pre-inactivación para conseguir un recuento final ≥ 3 x10<sup>11</sup> en al menos el 80% de las unidades.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 031

### PRODUCCIÓN Y ESTANDARIZACIÓN DE CONCENTRADOS DE HEMATÍES Y PLASMA A PARTIR DE SANGRE TOTAL.

*Autor/a/s:* Herranz Gonzalez-Botas, Cristina/Varela Fernandez, Jose/Piñeiro Freire, Marta/Lourido Martinez, Lidia/Guillán Rodríguez, Juan/Isasi Fernández, Fernanda/Burgo García María/García Nieto, M<sup>a</sup> Soledad/Pérez Duarte, Lucía/Castrillo Fernández, Azucena

*Centro de trabajo:* Centro de Transfusión de Galicia. *Localidad:* Santiago de Compostela

*Correo electrónico del primer firmante:* cristina.herranz.gonzalez-botas@sergas.es

### Introducción:

El procesamiento de la sangre total (ST), para la obtención de componentes sanguíneos (CS) en el contexto general de la cadena transfusional -del donante al receptor-, ocupa una posición intermedia y, si bien se ha de contemplar como un eslabón más de la cadena, en los últimos años se han incorporado algunos sistemas y procesos de modificación y tratamiento que afectan a los CS. Diversos grados de automatización están presentes en este campo, hasta no hace mucho tiempo eminentemente manual. La ST constituye la materia prima para la producción de productos lábiles sanguíneos. Se analiza la producción de concentrados de hematíes (CH) y plasma para uso hospitalario según las necesidades en los últimos 2 años, así como la consistencia de parámetros de calidad en el periodo observado.

### Material y Métodos:

La ST, con un volumen medio de 450±45 ml, se extrae en dos configuraciones de bolsas:

- top & bottom (Leucoflex LCR-Diamond, MacoPharma), con filtro en línea para hematíes y
- con filtro en línea para ST (Leucoflex LXT, MacoPharma).



La ST sin filtrar o filtrada, hasta su fraccionamiento permanece en sala termo-controlada entre 20-24°C. La ST se centrifuga, con distintos parámetros de rpm, aceleración, freno y tiempo según el tipo de bolsa en 6 equipos Cryofuge 6000i (Heraeus). La separación de componentes se realiza en 12 separadores semiautomáticos Compomat G-4 (Fresenius), en el último medio año se han cambiado a procesadores G-5. En esta comunicación nos centramos en los hematíes y plasma para uso hospitalario procedente de la ST. El plasma con los criterios de procedencia-de varón no transfundido- y de aspecto físico –no hemólisis, no lipemia y volumen mayor de 250 ml- es inactivado con la tecnología de azul de metileno e iluminación, este proceso se realiza inmediatamente a la separación del plasma, y conlleva la filtración del plasma. El proceso de congelación rápida se hace inmediatamente al finalizar el proceso de inactivación.

En el procesamiento de la ST, es crucial tener un control sobre todos los pasos que potencialmente pueden incidir en los CS finales, esto incluye la temperatura, rango de volúmenes aceptados, programas de centrifugación y de los separadores, congeladores rápidos y cámaras de almacenamiento de los distintos CS. Dentro de este contexto entra el control del equipamiento, aspecto muy importante, ya que en la medida que se lleve a cabo correctamente vamos a disponer de “buenos” CS, tanto desde el punto de vista cuantitativo como del cualitativo. En nuestra Unidad se llevan a cabo verificaciones de los equipos de temperatura, peso, centrifugas, congeladores, cámaras de almacenamiento, así como las correspondientes calibraciones.

Assumiendo que trabajamos en unas condiciones estándar en relación a la metodología y utilización de medios –equipos y otro tipo de material- en la línea que se ha expuesto, los CS que obtenemos deben cumplir los criterios de calidad establecidos por la normativa estatal (Real Decreto 1088/2005 -BOE 225 del 20/09/2005-) y la Guía del Consejo de Europa (CE) 15ª edición.

## Resultados:

En la siguiente tabla, se reflejan los datos del número de componentes obtenidos, el número de CS evaluados y los parámetros de calidad, a lo largo de 2 años.

	Nº Unid. obtenidas	Nº Unid. Chequ.	Volumen CHL (ml)	Hb total (gr/Un)	Hto (%)	Vol. Plasma (ml)	F. Vllc (%)	F. V (%)	Fibrinógeno (mg/dl)
Año 2011= 108.694	PFAM 14.727	423				249±19	86.7±26.8	73.5±19.8	199.5±45.4
Top&bottom	65.346	1410 *	260.8±18.2	51.7±5.7	61.1±2.4				
Filtro ST	43.348	1287 *	280±19.6	53±6.1	58.2±3.6				
Año 2012 ST= 107.711	PFAM 17.112	378				250±18.5	92.5±27.7	76.1±18.9	196.5±43.3
Top&bottom	67.055	1795 *	260.4±17	51.7±5.7	61.1±7.4				
Filtro ST	40.656	1507 *	280.7±19.9	55±6.3	58.6±3.9				

\* nº de unidades de CH chequeados.

Los datos de plasma hacen referencia al nº de unidades de plasma inactivadas (PFAM), nº unid chequeadas, volumen final, y los factores de coagulación en valores medios.

El contenido de proteína total en todas las unidades de plasma chequeadas fue mayor de 50 g/l, y los leucocitos residuales menores de 1x106.

Conclusión: El seguimiento y control estricto de las fases que conforman el procesamiento de la ST nos permite obtener componentes que cumplen los criterios de calidad establecidos, y además nos proporciona continuidad y estabilidad en los resultados.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 032

## EVALUACIÓN DE LOS CONCENTRADOS DE HEMATÍES OBTENIDOS DE LA SANGRE TOTAL, ALMACENADA A 22°C TODA LA NOCHE.

Autor/a/s: López Lemos, Mª José/ Vázquez Bértoa, Carmen/Fuentes Vilanova, Beatriz/Goas Ferreiro, Mª Carmen/Suarez Pérez, Elena/Iglesias Otero, Mª sol/Fernández Aneiros, Miguel/Herranz Gonz-Botas, Cristina/Canabal Vazquez, Belén /Arcas Otero, Carina

Centro de trabajo: Centro de Transfusión de Galicia. Localidad: Santiago de Compostela

Correo electrónico del primer firmante: mariajose.lopez.lemos@sergas.es

## Introducción:

El Centro de Transfusión de Galicia recoge anualmente más de 107.000 unidades

de sangre total (ST). La ST constituye la materia prima para la producción de productos lábiles sanguíneos, que se van a distribuir a los hospitales de la región. Se hace un análisis de los niveles de hemoglobina en los concentrados de hematíes (CH), obtenidos a partir de dos tipos de bolsas con filtros específicos.

## Material y Métodos:

La ST, con un volumen medio de 450±45 ml, se extrae en dos configuraciones de bolsas:

- un 60% en bolsa top & bottom (Leucoflex LCR-Diamond, MacoPharma) y
- el 40% restante con filtro en línea para ST (Leucoflex LXT, MacoPharma).

En la configuración a) la sangre total permanece toda la noche a 22°C, y se procesa en las 15-18 horas siguientes a la extracción, la filtración de los hematíes se lleva a cabo al finalizar el fraccionamiento de cada unidad.

En la configuración b) la ST, es filtrada entre 5- 8 horas tras la extracción, la mayoría de las unidades son fraccionadas al finalizar la filtración y un pequeño porcentaje de la ST filtrada permanece a 22°C hasta su fraccionamiento a la mañana siguiente.

En el procesamiento de la ST, se hace especial hincapié en el estricto control de la temperatura, en el cumplimiento de los márgenes de volúmenes aceptables, así como en la homogeneización de la ST previo al paso de la centrifugación, e igualmente proceder a la mezcla homogénea del CH con la solución aditiva (SAG-M).

Algunos de los indicadores establecidos en la Unidad de procesamiento de componentes, contemplan los registros de temperatura a la recepción de la ST, así como en todas las salas de trabajo de la Unidad, en los refrigeradores de almacenamiento y durante el transporte para el suministro hospitalario. Además, como indicador de calidad del producto, hemos establecido el recuento celular en el 2% de los CH leucodeplecionados (CHL) obtenidos.

Se determinó el volumen de los CHL, registrando el peso neto y dividiendo por la densidad, 1.07. La muestra para el recuento celular, se toma del tubular tras arrastrar 6 veces y homogeneizar el contenido de la bolsa, se uso el autoanizador Sysmex XT2000i, y el recuento de leucocitos residuales se hizo por citometría de flujo en el 1% de las unidades.

## Resultados:

Se registran los datos de los dos últimos años en la siguiente tabla.

	Número de unidades	Nº de unidades chequeadas	Volumen (ml)	Hb total (gr/unidad)	Valor Hto (%)
Año 2011 ST= 108.694					
Top&bottom(a)	65.346	1410	260.8±18.2	51.7±5.7	61.1±2.4
Filtro ST (b)	43.348	1287	280±19.6	53±6.1	58.2±3.6
Año 2012 ST= 107.711					
Top&bottom(a)	67.055	1795	260.4±17	51.7±5.7	61.1±7.4
Filtro ST (b)	40.656	1507	280.7±19.9	55±6.3	58.6±3.9

En la configuración a) el 0.7% de las unidades y en la b) el 0.4% de las unidades tienen menos de 40 gramos de hemoglobina. Reseñar que en la configuración b) en el último año se incorporó un nuevo filtro rígido, de capas de poliéster con diseño especial que retiene menos hemoglobina, esto se traduce en un aumento de 2 gr de Hb por unidad.

La cifra de leucocitos residuales fue menor de 1x106 en todas las unidades, excepto en 4 unidades top & bottom que requirieron nueva filtración.

## Conclusión:

Los CHL preparados en el CTG, independientemente de la configuración de la bolsa, siguen los parámetros establecidos con un alto porcentaje de cumplimiento y consistentes en el tiempo. La Introducción de mejoras en el rendimiento de los filtros tiene consecuencias positivas en la recuperación de hemoglobina.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 033

## COOMBS DIRECTO POSITIVO: ANALISIS DE LAS DETERMINACIONES ANUALES

Autor/a/s: Juana Moral Moral, Manuela Moral Jurado, Pedro Francisco Molina Sanchez, Mª Francisca Muñoz Marin, Encarnación Puentes Díaz, Joaquina Viso Rodríguez.

Centro de trabajo: Unidad de Gestión Clínica Hematología-Hemoterapia del Hospital Universitario S. Agustín de Linares (Jaén). Localidad: Linares (Jaén)  
Correo electrónico del primer firmante: [juani\\_moral\\_@hotmail.com](mailto:juani_moral_@hotmail.com)

### Introducción:

La determinación del Coombs Directo permite detectar la presencia de Anticuerpos fijados a la superficie de los hematíes. La identificación de la Inmunoglobulina específica resulta de vital importancia para el diagnóstico del cuadro clínico.

### Método:

Se han recogido las determinaciones de Coombs Directo realizadas en la Unidad de Gestión Clínica Hematología-Hemoterapia del Hospital Universitario S. Agustín de Linares (Jaén), entre el periodo de un año: Enero de 2012 hasta Diciembre del 2012. Dichas determinaciones proceden de: Estudios Pre-Transfusionales, Estudios de Anemia y Estudios de Recién Nacidos.

Cuando el Coombs Directo Poliespecífico es Positivo, se realiza la determinación de Coombs Directo Monoespecífico, según el protocolo establecido en la Unidad.

### Material:

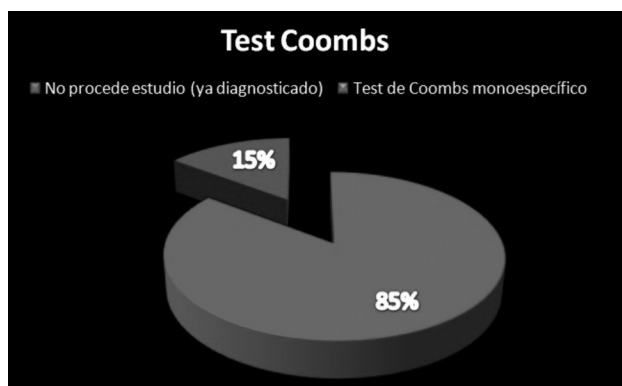
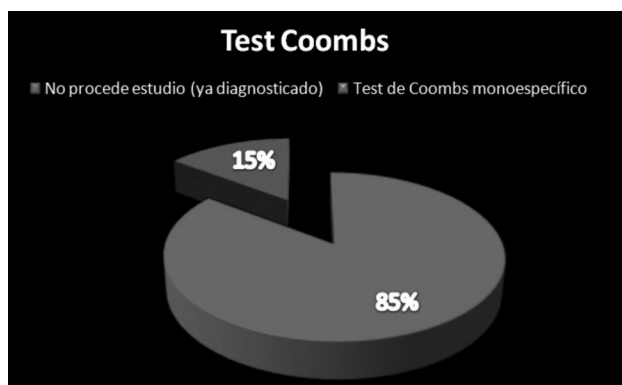
Hemos utilizado Tarjetas de células en microcolumna con gel de Liss-Coombs para realizar el Coombs Directo Poliespecífico y células Monoespecífico identificando el tipo de anticuerpo (IgG, anti-IgM, anti-IgA, anti-C3+C4, anti-C3b, anti-C3d, anti-C4b y anti-C4d), de la casa Diamed.

En la cámara de reacción situada sobre la columna del gel es donde se dispensan las muestras y donde se producen las reacciones de sensibilización.

### Resultados:

Se realizaron 1579 determinaciones Coombs directo Poliespecífico, de las cuales:

- Test de Coombs Directo Poliespecífico Positivos previos: 1348 pacientes.
- Realizamos el Coombs Monoespecífico a 231 pacientes, de los cuales:
  - 41 Estudios de Recién Nacidos : son IgG positiva
  - 152 Peticiones de transfusión de sangre: son IgG positiva
  - 38 Estudios de anemia: son IgG + C3d positivo



### Conclusión:

- La prueba de Test de Coombs Directo y Test Coombs Monoespecífico en Tarjeta es una Técnica sencilla, rápida y de gran utilidad para un adecuado diagnóstico clínico y una decisión terapéutica.
- Test Coombs Monoespecífico en Tarjeta, en los casos de Coombs Directo positivo, aporta datos valiosos para el estudio Inmunohematológico.
- El 84% de los Anticuerpos encontrado con mayor frecuencia es la IgG, tanto en Estudios del Recién Nacidos como en estudios Pre-Transfusionales.

- El 16% de los resultados son IgG + C3d en Estudios de Anemia.
- Una identificación rápida ayuda en la toma de decisiones y puede reducir el uso de otras pruebas complementarias, así como la estancia hospitalaria.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 040

### IMPLANTACION DEL SISTEMA DE HEMOVIGILANCIA (P.D.A.)

Autor/a/s: M<sup>a</sup> Francisca Muñoz Marín, Joaquina Viso Rodríguez, Encarnación Puentes Díaz, Pedro Francisco Molina Sanchez, Juana Moral Moral, Manuela Moral Jurado

Centro de trabajo: Unidad de Gestión Clínica Hematología-Hemoterapia del Hospital Universitario S. Agustín de Linares (Jaén). Localidad: LINARES (Jaén)

Correo electrónico del primer firmante: [marapacaji@hotmail.com](mailto:marapacaji@hotmail.com)

### Introducción:

La seguridad del acto Transfusional no sólo radica en la administración del componente; debe ser considerada desde el momento de indicar la transfusión. No existe la transfusión con riesgo cero y es posible que no pueda existir nunca. Los riesgos actuales de la transfusión no están asociados a la calidad y seguridad de los componentes sanguíneos, sino a los errores que tan frecuentemente se cometen en relación con los protocolos y procedimientos de administración de componentes sanguíneos en el ámbito hospitalario.

Los componentes sanguíneos son actualmente muy seguros, la meta es que la transfusión sanguínea alcance el mismo nivel de seguridad; es un procedimiento en cadena que implica transversalmente a varios servicios y a personal con diferente cualificación, hay que conocerla en todos sus eslabones para ser conscientes del posible error en cada paso.

### Método:

El Sistema de Hemovigilancia (P.D.A.), de la Unidad de Gestión Clínica Hematología-Hemoterapia del Hospital Universitario S. Agustín de Linares (Jaén), tiene como Objetivo: Garantizar la Seguridad Transfusional, Aumentar la confianza de los pacientes y Actuar de forma rápida para detectar, prevenir o evitar los efectos adversos de la transfusión...HEMOVIGILANCIA.

### Material:

Soporte humano: Paciente, médico, enfermero, celador, y el Técnico Especialista de Laboratorio (TEL) de la Unidad de Gestión Clínica de Hematología-Hemoterapia del Hospital Universitario S. Agustín de Linares (Jaén).

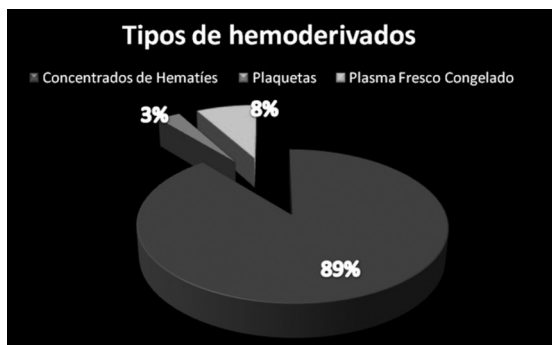
Soporte informático: historia clínica, solicitud de transfusión, las etiquetas para identificar al paciente, a la muestra, al componente sanguíneo, todo recogido en el sistema informático de la Unidad de Gestión Clínica: Programa DELPHYN (sistema DELFHYN).

Soporte material: Equipos autoanalizadores HemoCod (identificación con soporte papel de pulsera identificativa: código de barras), extracción de la muestra, Historia clínica y solicitud en soporte papel, y la triple verificación del proceso de transfusión: lectura unidad, lectura producto, y lectura pulsera.

### Resultados:

De 5.087 Peticiones de Transfusiones recibidas en el periodo de un año, desde enero de 2012 hasta diciembre del 2012, en nuestra Unidad de Gestión Clínica de Hematología-Hemoterapia del Hospital Universitario S. Agustín de Linares (Jaén), se transfundieron en total 2.803 unidades:

- 2.499 unidades de concentrados de Hematíes (CH), 82 unidades de Plaquetas (PQ) y 222 unidades de Plasma Fresco Congelado (PFC).
- 2.500 unidades se Transfundieron con el dispositivo de seguridad PDA utilizando:
  - Sistema HemoCod
  - Sistema informático DELPHYN.
- 303 unidades se Transfundieron con informe papel: quirófano o urgencia externa.



### Conclusión:

- La seguridad Transfusional es una metodología que debe estar presente en todos los laboratorios de Hematología-Hemoterapia.
- Estos Dispositivos electrónicos permiten la identificación de pacientes, muestras y componentes... Con el PDA, se comprueba que existe correspondencia entre bolsa y paciente, en cuyo caso muestra datos del paciente (Edad, nombre, apellidos, sexo, grupo).
- Con este sistema de seguridad Transfusional, documentamos la transfusión, verificamos cualquier dato de trascendencia en el momento en que se produce y al almacenarlo en soporte informático SE GARANTIZA LA TRAZABILIDAD, desde el inicio de la Transfusión hasta su finalización.
- Con los resultados obtenidos, afirmamos que la seguridad Transfusional y la Triple verificación del Programa DELPHYN (sistema DELPHYN), como el sistema HemoCod nos aportan, en el 89% de los casos Seguridad, Garantía y Calidad en la Transfusión.
- Una identificación rápida ayuda en la toma de decisiones y puede reducir el uso de otras pruebas complementarias, así como la estancia hospitalaria.
- En situaciones de extrema urgencia (11% de los casos) es un sistema lento.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 054

### LEUCEMIA AGUDA LINFOIDE B EN UN ADULTO CON DOBLE CROMOSOMA FILADELFIA + E ISOFORMAS P190 Y P210.

Autor/a/s: Nuria López Galindo, Yolanda Díaz Matínez, Vanessa Barragán López, Cristina Juan Lizana, Jordi Ribera Salas, José Tomás Navarro Ferrando, Ines Rodríguez Hernández.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Germans Trias y Pujol. Localidad: Badalona

Correo electrónico del primer firmante: nuria.lopezgal@gmail.com

### Introducción:

La leucemia linfoide aguda (LLA) representa el 15-20% de las leucemias agudas en adultos y la tasa de curación se sitúa alrededor del 40-45%.

Las anomalías cromosómicas son, junto a la edad, el número de leucocitos al diagnosticarlo y la rapidez de respuesta al tratamiento, uno de los factores para determinar el pronóstico de la LLA. La alteración citogenética más común es el cromosoma Filadelfia (Ph') que se origina por la t(9;22) y determina la formación del gen híbrido BCR/ABL, presente en un 25% de los casos. Este gen de fusión promueve la proliferación celular y evita la apoptosis desencadenando así la leucemia. Como consecuencia de esta traslocación se codifican mRNAs quiméricos que dan origen a proteínas de fusión anómalas: p230, p210 y p190. De éstas, la

p190 es la que se presenta habitualmente en los casos de LLA, mientras que la p210 es la isoforma típica de la leucemia mieloide crónica. La presencia de las 2 isoformas en un mismo caso de LLA es un hecho muy poco frecuente (3%).

### Objetivo:

Descripción morfológica, citoquímica, inmunofenotípica, citogenética y biología molecular de un caso clínico poco frecuente de LLA- B con doble cromosoma Ph' y del gen híbrido BCR/ABL con las 2 isoformas (p210, p190).

Constatar la importancia del estudio molecular mediante RT-PCR (cuantitativa) para evaluar la eficacia del tratamiento combinado de quimioterapia con un inhibidor de la tirosinasa (imatinib) en la reducción de la cantidad de la carga tumoral.

### Caso clínico y metodología:

Varón de 44 años con antecedente de corea de Huntington, sin necesidad de tratamiento dado que la sintomatología siempre había sido leve. Exploración física sin adenopatías periféricas palpables ni visceromegalias.

Se revisaron los diagnósticos de LLA-B, en nuestro centro, del 2005 al 2012 y los resultados del estudio molecular de las isoformas de la proteína de fusión BCR/ABL para buscar casos con las 2 isoformas.

### Resultados:

De los 36 casos diagnosticados de LLA-B, se encontraron 2 con doble cromosoma Ph' y de estos, 1 con las 2 isoformas, que es el caso clínico que se describe.

Hemograma: Leucocitos: 106,9x10<sup>9</sup>/L (32% segmentados, 20% linfocitos, 1% basófilos, 3% bandas, 3% metamielocitos, 1% mielocitos, y 40% blastos), hemoglobina: 125 g/L, plaquetas: 121x10<sup>9</sup>/L.

Morfología de la sangre periférica: Se observaron blastos de tamaño mediano-grande con nucleolo evidente y sin granulación.

Coagulación: Tiempo de Quick (AP) 100%, fibrinógeno 488 mg/dL, tiempo de cefalina (TTPA) 25 segundos.

Bioquímica: Urea 56 mg/dL, creatinina 1,4 mg/dL, bilirrubina 0,4 mg/dL, AST 31 u/L, Na 140 mmol/L, K 4,3 mmol/L.

Aspirado de médula ósea: Celularidad muy aumentada que borraba la grasa medular. Infiltrado por blastos de aspecto linfóide que corresponde al 69% de la celularidad global. Los precursores de la hematopoyesis de las 3 series estaban en cantidad disminuida.

Citoquímica: Peroxidasa negativa (en sangre periférica y en médula ósea).

Inmunofenotipo: Infiltración por blastos de tipo LLA- B común con expresión aberrante de CD66c 83%, CD5 (parcial) 10%, CD79a (citoplasmático) 68%, TdT 65%, CD34 (citoplasmático) 69%, CD10 66%, CD19 68%, CD19/CD10 68%, CD34 68%, CD45 86%, DR 71%.

Citogenética: De las 20 metafases analizadas, 3 presentaban 48 cromosomas con trisomía del cromosoma 2 y un doble cromosoma Ph'. Cariotipo: 46,XY, t(9;22)(q34;q11) [17] / 46, sl, +2, +der(22)t(9;22)(q34;q11) [3].

Biología molecular: El análisis del ARNm mediante la técnica RT-PCR cualitativa demostró la presencia del gen de fusión BCR/ABL con expresión de las isoformas p190, p210. La PCR cuantitativa fue de: 215,33x100 copias.

### Evolución

Se inició tratamiento según el protocolo de PETHEMA de alto riesgo de 2008 para LLA BCR/ABL positiva con metilprednisolona, vincristina, daunorrubina e imatinib.

Durante el tratamiento de inducción no se observaron blastos ni en el día +8 (en sangre periférica) ni en el día +14 (en médula ósea) con evidencia de remisión completa. Acabó la fase de inducción con Enfermedad Mínima Residual por RT-PCR cuantitativa de ratio 23,16, por lo que se decidió continuar la primera fase de consolidación.

### Conclusión:

El estudio por biología molecular de la LLA-B es necesario tanto en el diagnóstico, como en la reevaluación tras el tratamiento y en la evolución.

La presencia de las dos isoformas p190 y p210 y doble cromosoma Ph', en un mismo caso, es un hecho muy poco frecuente que implicaba un pronóstico muy desfavorable a corto plazo, hasta la introducción de los inhibidores de la tirosinasa de BCR/ABL como son imatinib, nilotinib o dasatinib en combinación con quimioterapia.

Dada la marcada reducción de la ratio BCR/ABL (de 215,33x100 a 23,16 copias), se puede concluir que en este caso el tratamiento con imatinib combinado con quimioterapia fue efectivo en reducir la carga tumoral.



## ESTUDIO COMPARATIVO DE LA MORFOLOGÍA DE SANGRE PERIFÉRICA ANALIZADA MEDIANTE EL MICROSCOPIO CONVENCIONAL Y EL CELLAVISION DM1200 EN UN LABORATORIO DE RUTINA

Autor/a/s: M. CARMEN GUILLÉN ESTEBAN, MERCEDES PAREDES RECIO, ESTRELLA RUBIO, ANA GARCÍA

Centro de trabajo: Hospital universitario Mostoles. Localidad: MOSTOLES (MADRID)

Correo electrónico del primer firmante: brevas3@hotmail.com

### Introducción:

La sangre periférica es un fluido orgánico fácilmente accesible por lo que su estudio representa el eslabón analítico inicial y su revisión (SP) mediante el examen del frotis es un punto de partida imprescindible en el diagnóstico de la mayoría de las enfermedades tanto hematológicas como no.

### Objetivo:

Evaluar la concordancia entre el resultado obtenido al realizar el recuento diferencial leucocitario de SP mediante el microscopio óptico convencional y los obtenidos mediante el CellaVision DM1200 o el sistema de análisis de imagen digital automatizado así como analizar las posibles ventajas o inconvenientes de su utilización en la práctica asistencial diaria en un laboratorio de hematología de rutina.

### Materiales y Métodos:

En primer lugar es preciso señalar que es muy importante la obtención de las preparaciones adecuadas, tanto por el grosor como por la tinción, para que la observación de los elementos sanguíneos con el DM1200 se realice en las condiciones más idóneas, por el contrario daría demasiados artefactos y no se podría evaluar correctamente.

Para este estudio procesamos 100 muestras de pacientes del Hospital Universitario de Mostoles con cifras de leucocitos entre 1,99 y 110 × 10<sup>9</sup>/L. por un Sysmex 5000 todas con criterios para la realización de frotis sanguíneo. Una vez realizadas las extensiones de sangre periférica y teñidas con MGG, se observaron al microscopio convencional y después se procesaron por el contador digital CellaVision 1200, obtenidos los resultados. Se compararon los porcentajes de neutrófilos, cayados, eosinófilos, basófilos, linfocitos, monocitos, células linfoides reactivas, metamielocitos, mielocitos, blastos, células plasmáticas PRE-clasificación y POST-clasificación.

### Resultados:

La correlación de los resultados del DM1200 PRE con respecto al microscopio fue buena para neutrófilos, linfocitos, monocitos, y aceptable para bandas, eosinófilos, basófilos y células plasmáticas. Después de la reclasificación celular, los porcentajes de concordancia fueron buenos para mielocitos, para células linfoides reactivas y eritroblastos, y bajos para los metamielocitos.

Se observaron falsos negativos en la detección de blastos en algunos frotis procesados por el DM1200.

Con excepción de las células linfoides reactivas y blastos linfoides, el equipo no reclasificó otras células linfoides atípicas, que debieron ser identificadas por el TEL y validadas por el hematólogo.

### Conclusiones:

En el poco tiempo que llevamos trabajando con el equipo. El análisis morfológico de sangre periférica mediante el Cella Vision DM1200 muestra una buena concordancia con respecto al microscopio con excepción de algunas células, y representa un avance tecnológico para el laboratorio de Hematología de rutina con un número elevado de muestras. Tiene ventajas adicionales, mayor rapidez, asegurar la trazabilidad, facilitar la docencia y económicas.

Centro de trabajo: HOSPITAL ÁLVAREZ-BUYLLA. Localidad: MIERES, ASTURIAS

Correo electrónico del primer firmante: franciscabravoc@gmail.com

### Introducción:

Las anemias son causa frecuente de consulta en atención primaria (AP). Su diversa etiología condiciona que el facultativo de primaria no solicite en la primera extracción todos los parámetros necesarios para su correcto diagnóstico, constando la petición estándar de hemograma y bioquímica básica, ya que el volumen de pacientes en AP no recomienda la solicitud de todos los parámetros a todos los pacientes con evidencia clínica de síndrome anémico. Una vez que el facultativo observa los primeros resultados indica pruebas adicionales al laboratorio aunque en ocasiones la solicitud es tardía no disponiéndose de la muestra de suero, teniendo que citar nuevamente al paciente para extracción. Es en este punto es donde el laboratorio puede intervenir facilitando la orientación diagnóstica del proceso anémico en la primera extracción mediante la generación automática de pruebas según los parámetros de hemograma (hemoglobina y volumen corpuscular medio), reduciendo número de extracciones y tiempo de diagnóstico.

### Objetivos:

Implantación en el laboratorio clínico del Hospital Álvarez-Buylla (Mieres, Asturias) de un sistema de actuación conjunta del personal técnico (encargado de procesamiento de muestras y validación técnica a pie de equipo) y facultativo (validación clínica final) de las secciones de Hematología y Bioquímica Clínica ante síndromes anémicos en atención primaria mediante la generación de cascadas de pruebas reflejas según la información suministrada por el hemograma y los valores de los nuevos parámetros bioquímicos creados.

### Material y métodos:

Se diseñaron conjuntamente entre las secciones de Hematología y Bioquímica Clínica los protocolos a seguir ante casos de anemias microcíticas, normocíticas y macrocíticas. La implantación de los mismos en el sistema de información del laboratorio (SIL, Openlab, Abbott Diagnostics) se llevó a cabo mediante el empleo de conectivas y proposiciones lógicas que tradujesen al lenguaje del SIL los algoritmos diseñados.

### Resultados:

La implantación de dichos algoritmos para el caso de anemias microcíticas conlleva la creación automática de ferritina sérica, confirmando la ferropenia ante valores bajos. Si es normal o elevado conllevaría la generación de hierro sérico, transferrina, índice de saturación de transferrina (IST) y proteína C reactiva (PCR) para descartar anemia de proceso crónico. Ante anemias macrocíticas la prueba refleja son los reticulocitos. Si el recuento es bajo se genera automáticamente vitamina B12 y ácido fólico indicándose anemia carencial si hay déficit de alguno de ellos. Si son normales se indica valoración por consulta de Hematología. Si el recuento de reticulocitos es alto se indica la creación de LDH descartándose proceso hemolítico ante valores normales. En las anemias normocíticas la prueba refleja son también los reticulocitos. Si están elevados se generan de forma refleja LDH, bilirrubina total y haptoglobina con el objetivo de diferenciar causa hemorrágica o hemolítica. Si el recuento de reticulocitos es bajo o normal se crearían pruebas de metabolismo de hierro y PCR para descartar anemia de proceso crónico.

### Conclusiones:

Con una única extracción se proporciona al clínico una valiosa información diagnóstica que reduce tiempo de diagnóstico y coste económico. Para el personal técnico supone únicamente un incremento de la tarea de control sobre las listas de trabajo y estricta vigilancia en validación a pie de equipo, si bien ambos son procesos informatizados y representan menos tiempo que la búsqueda de sueros días más tarde para pruebas adicionales.

## IMPLANTACIÓN DE PROTOCOLO ANALÍTICO ANTE PROCESOS ANÉMICOS EN LABORATORIO DE HOSPITAL COMARCAL ÁLVAREZ-BUYLLA (MIERES, ASTURIAS)

Autor/a/s: FRANCISCA BRAVO CABELLO, TERESA GONZÁLEZ GARCÍA, VANESSA RODRÍGUEZ GARCÍA, EVA PILOÑETA GONZÁLEZ, NOELIA BERNAL PÉREZ, ROSARIO ISABEL LÓPEZ SANTOS, ROSARIO FERNÁNDEZ CAMPOMANES, AZUCENA SAMPEDRO GARCÍA, CARMEN FERNÁNDEZ FERNÁNDEZ, GONZALO HIDALGO SACRISTÁN.

## VARIABILIDAD DE LOS RESULTADOS DEL INR CON EL EMPLEO DE DOS REACTIVOS DE TROMBOPLASTINA DE ALTA SENSIBILIDAD.

Autor/a/s: Machado González, María Ángeles; González Laguna, Soraya; García Furones, Julia; Rodríguez García, José Antonio; Pérez Gutiérrez, Belén; Ballina Martín, Belén.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LEÓN. Localidad: LEÓN

Correo electrónico del primer firmante: celsagon@yahoo.es



## Introducción:

La estandarización de los resultados del control del tratamiento anticoagulante oral (TAO) mediante su expresión en forma de INR (International Normalized Ratio) permitió la independencia del equipo y la tromboplastina empleados, al tener en cuenta el ISI (International Sensivity Index) del reactivo, que actuaría como factor de corrección.

El cambio de la tromboplastina empleada en nuestro laboratorio nos obligó a modificar la dosis en algunos pacientes previamente estables sin motivo aparente.

## Objetivos:

Analizar si el empleo de diferentes tromboplastinas puede ocasionar variaciones en los resultados de INR hasta el punto de precisar ajuste de dosis del TAO.

## Material y métodos:

Se analizó en paralelo el INR de 259 pacientes, con controles habitualmente estables, con dos tromboplastinas de alta sensibilidad (PT-Fibrinogen HS PLUS (cerebro de conejo, ISI: 1.18, HemosIL®)-reactivo 1- y RecombiPlasTin 2G (recombinante humano, ISI: 0.99, HemosIL®)-reactivo 2-. Se empleó un único equipo (ACL TOP, IZASA), siendo correctas las curvas de calibración del equipo y los controles de calidad externos para ambos reactivos.

## Resultados:

El rango de edad de los pacientes osciló de 19-95 años, media de 72.3 años, el 52.1% de sexo masculino. La media del INR con el reactivo 1 fue  $2.66 \pm 0.97$ , y de  $2.43 \pm 1.06$  con el reactivo 2 (NS). Esta tendencia se mantuvo independientemente del sexo, la diana terapéutica y la edad:

		Reactivo 1	Reactivo 2
Sexo	Masculino	2.59	2.33
	Femenino	2.72	2.54
Diana terapéutica	<2	1.69	1.46
	2-2.5	2.25	1.97
	2.5-3	2.75	2.49
	>3	3.88	3.75
Edad	≤50 años	2.55	2.31
	51-65 años	2.80	2.55
	66-80 años	2.60	2.38
	>80 años	2.69	2.46

Los resultados entre ambos reactivos mostraron un buen coeficiente de correlación (0.975), siendo las variaciones de tipo constante y proporcional, de acuerdo a la ecuación:  $Y \text{ (reactivo 1)} = 0.95 \times [X \text{ (reactivo 2)}] + 0.36$ . Aunque en ningún caso las diferencias fueron significativas, en un  $22.8 \pm 5.1\%$  la actitud terapéutica fue diferente en función del reactivo empleado, siendo la tendencia al aumento de dosis al haber obtenido menor INR tras el análisis con el reactivo 2.

Consideramos que el hecho de que el reactivo 1 tenga un mayor ISI y menor sensibilidad a pequeñas variaciones de factor VII permitiría esperar ligeras diferencias de INR, pero no tan elevadas como en nuestro caso. Si bien el INR es el mejor ajuste disponible, esto parece representar una limitación de su valor como parámetro completamente independiente del tipo de tromboplastina empleado pese al ajuste matemático que representa el ISI.

## Conclusiones:

- 1) El diferente comportamiento de dos reactivos de tromboplastina genera diferencias en la actitud terapéutica en torno al 20% de casos.
- 2) La justificación a estas variaciones parece ser la diferente sensibilidad de los reactivos ante modificaciones de factor VII.
- 3) Pese a que el control de INR es sin duda la mejor opción para el control de tratamiento anticoagulante oral, está sujeto a ciertas limitaciones, lo que aconsejaría realizar los controles en un mismo centro y empleando una misma tromboplastina.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 071

## CORRELACIÓN ENTRE LA DETERMINACIÓN DEL FIBRINÓGENO DERIVADO CON DOS REACTIVOS DE ALTA SENSIBILIDAD Y EL FIBRINÓGENO CLAUS.

Autor/a/s: Alonso Díez José Antonio, López Cerecedo María Sally, Rodríguez García José Antonio.

Centro de trabajo: Hospital Universitario de León. Localidad: LEÓN

Correo electrónico del primer firmante: jose22alonso@hotmail.es

## Introducción:

Aunque el método de Von Clauss es el considerado como estándar en la determinación de la concentración de fibrinógeno debido a que realiza una medición directa, el más empleado es el derivado de la medición de la absorbancia máxima del coágulo en el análisis del tiempo de protombina; una medición indirecta que permite reducir costes y que se correlaciona bien con el estándar cuando los valores de fibrinógeno son normales, pero que pierde efectividad en la determinación de valores extremos.

Debido a que los niveles de fibrinógeno se modifican en numerosos procesos, una disminución importante en su concentración puede tener un marcado valor predictivo en la gravedad de la hemorragia y una interpretación incorrecta de los valores reales puede complicar el diagnóstico o las decisiones médicas.

## Objetivos:

Comparar las determinaciones de fibrinógeno derivado (FNGderiv) obtenidas en nuestro laboratorio con dos reactivos comerciales entre sí y con las obtenidas por el método de referencia (FNGCia), a fin de discriminar si las primeras pueden ser válidas ante diferentes situaciones clínicas.

## Material y métodos:

Hemos determinado el FNGderiv en 112 muestras de sangre venosa mediante el procedimiento habitual empleando dos reactivos comerciales de alta sensibilidad: 1) PT-Fibrinogen HS PLUS (HS+, IZASA) cuyo rango de linealidad oscila entre 80-850 mg/dl y 2) RecombiPlasTin 2G (2G, IZASA) cuya linealidad está entre 60-700 mg/dl, comparándolo con la cuantificación obtenida por el método Von Clauss con el reactivo Fibrinogen - C (IZASA), cuyo rango de linealidad se amplía a 35-1000 mg/dl.

El análisis se realizó de forma simultánea con los tres reactivos comerciales, a fin de aminorar la influencia del tiempo y la congelación de las muestras en los resultados. Se descartaron las muestras en que el valor del fibrinógeno derivado estaba fuera del rango de linealidad de cada reactivo y en todos los casos se empleó un coagulómetro ACL TOP 500 CTS (IZASA, S.A.).

El tratamiento estadístico de los datos se realizó mediante: el método de correlación de Passing-Bablok, el análisis de la media de las diferencias entre métodos (Bland-Altman) y el cálculo del coeficiente de correlación de Pearson, utilizando los programas informáticos Medcalc y Multi QC. Inicialmente se compararon los resultados globales de la totalidad de muestras, clasificándolas en una segunda fase en dos grupos: aquellas con FNGderiv <200 mg/dl por cualquiera de los dos métodos (grupo A) y las que tenían FNGderiv >200 mg/dl con ambos métodos (grupo B). Se compararon entre sí los FNGderiv obtenidos con cada uno de los reactivos y con el patrón de referencia.

## Resultados:

En el análisis del conjunto de muestras, ambos reactivos presentan una variación constante y proporcional respecto a los valores de FNGCia. Esas diferencias son constantes aunque no proporcionales con las muestras del grupo A, mientras que para el grupo B los resultados son estadísticamente comparables. Para valores de FNGCia de 100 mg/dl, nivel límite de marcada relevancia clínica, los resultados de FNGderiv son 33% más altos con HS+ y 21% con 2G respectivamente. Los resultados de FNGderiv obtenidos con ambos reactivos son equivalentes para ambos grupos de muestras.

Grupos	Comparación	Recta de Regresión	IC 95% pendiente	IC 95% intercepto	Media de las diferencias (mg/dl)	IC 95% Medias	Coeficiente Correlación
Global n = 112	Clauss (X) vs HS+ (Y)	$Y = 1.13 \cdot X + 21$	1.08 - 1.18	10 - 29	50	44 - 56	0.975
	Clauss (X) vs 2G (Y)	$Y = 1.15 \cdot X + 12$	1.10 - 1.20	6 - 18	43	37 - 50	0.980
	HS+ (X) vs 2G (Y)	$Y = 1.03 \cdot X + (-16)$	1.00 - 1.07	-22 - (-8)	-7	-11 - (-2)	0.987
Grupo A n = 58	Clauss (X) vs HS+ (Y)	$Y = 1.05 \cdot X + 28$	0.90 - 1.26	4 - 42	35	30 - 40	0.848
	Clauss (X) vs 2G (Y)	$Y = 0.95 \cdot X + 26$	0.78 - 1.19	9 - 47	23	18 - 29	0.785
	HS+ (X) vs 2G (Y)	$Y = 0.86 \cdot X + 7$	0.72 - 1.06	-19 - 32	-12	-17 - (-6)	0.787
Grupo B n = 54	Clauss (X) vs HS+ (Y)	$Y = 1.11 \cdot X + 26$	0.95 - 1.27	-24 - 77	66	56 - 77	0.880
	Clauss (X) vs 2G (Y)	$Y = 1.05 \cdot X + 42$	0.95 - 1.22	-10 - 73	65	56 - 74	0.924
	HS+ (X) vs 2G (Y)	$Y = 1.04 \cdot X + (-18)$	0.95 - 1.14	-54 - 19	-1	-8 - 6	0.953

## Conclusiones:

- 1) La concordancia entre los resultados de FNGderiv con ambos reactivos es muy alta.
- 2) Aunque en todos los casos los valores de FNGderiv son mayores que el FNG-Cla, cuando el primero es >200 mg/dl los dos métodos evaluados proporcionan valores que no son significativamente diferentes al de referencia, pero que son un 20-30% superiores que éste, cuando el FNGderiv es <200 mg/dl.
- 3) El FNGderiv es una prueba sencilla y económica pero sujeta a limitaciones y errores cuando es inferior a 200 mg/dl, en concordancia con lo publicado; por lo que en estos casos, especialmente cuando sea <150 mg/dl, por la repercusión clínica que pudiera tener, se debería de determinar con el método de Von Clauss.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 072**

### A PROPÓSITO DE UN CASO DE CRIOAGLUTININAS.

*Autor/a/s: Panadero Tapia Nuria, Ferrer López Antonio, Jiménez Maroto Paloma*  
*Centro de trabajo: Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda. Localidad: Majadahonda*

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

## Introducción:

Hay veces que al analizar las muestras de hemogramas nos aparecen valores discordantes en el recuento de hematíes, hematocrito y volumen eritrocitario, que no se ajustan a las proporciones normales. Esto puede deberse a la presencia de crioaglutininas, que suelen ser anticuerpos anti IgM monoclonales kappa dirigidos contra el antígeno I o i de los hematíes y se codifican en un segmento del gen HV 4-21.

Esta reacción se produce a muy bajas temperaturas, entre 0-5°C y 10-15 °C en algunas ocasiones, produciendo un aumento de la afinidad de los anticuerpos por las proteínas de membrana del eritrocito, y se origina la aglutinación de los glóbulos rojos. Cuando hay aglutinación a temperaturas de 20°C o mayores se dice que son crioaglutininas de "amplitud térmica extensa". La autoaglutinación también puede ocurrir durante una cirugía cardíaca cuando la temperatura de perfusión está entre 15 - 32°C. Las crioaglutininas pueden causar dolores en las extremidades, trombosis, aglutinación y hemólisis.

A veces es posible establecer las especificidades de las crioaglutininas; las más frecuentes son: anti-H (no son inmunoglobulinas), anti-I (asociadas a Mycoplasma), anti-i (asociadas a mononucleosis infecciosa), anti-P (presentes en la hemoglobinuria paroxística).

En su determinación se emplea el suero de Coombs en prueba directa, permaneciendo el suero en contacto con los hematíes durante varias horas en la nevera.

Se encuentran a títulos representativos en anemias hemolíticas y en la pleuroneumonía producida por el Mycoplasma pneumoniae.

Valores en el hemograma en presencia de crioaglutininas:

Disminución del número de hematíes.

Disminución del hematocrito.

Marcada elevación de la concentración corpuscular media de hemoglobina (CHCM).

Gran aumento del volumen corpuscular medio (VCM).

Dichos errores son debidos a que las crioaglutininas plasmáticas producen la aglutinación de los hematíes, por ese motivo pasan varios hematíes a la vez por el autoanalizador interpretándolo como una única célula, lo que produce un recuento bajo de hematíes y un aumento del VCM. Cuando esto ocurre tenemos que poner especial atención, porque estamos ante una posible presencia de crioaglutininas.

## Objetivos:

Determinar la presencia de crioaglutininas en un caso procesado en el laboratorio de urgencias de hematología.

## Caso:

Paciente que llega a urgencias donde le solicitan pruebas de bioquímica y hematología. Al procesar el hemograma, nos damos cuenta que, presenta una alteración de la serie roja con valores anómalos entre los que se encuentran: el número de hematíes muy bajo, el hematocrito está por debajo del valor normal con respecto a la hemoglobina, tiene un aumento del VCM y una elevación del CHCM. Todos

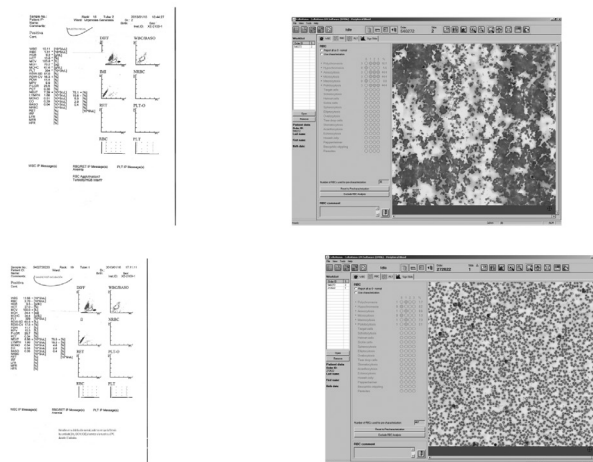
estos parámetros alterados nos pone en alerta y nos lleva a pensar en la presencia de crioaglutininas.

Por lo tanto, seguimos el protocolo de actuación frente a un caso de crioaglutininas, lo que nos lleva a realizar un frotis (tinción de May-Grünwald/Giemsa) para comprobar si hay presencia de agregados de hematíes, a continuación, para solucionarlo y dar un resultado correcto se incuba el tubo de hemograma en un baño a 37°C durante 15 minutos. Después de hacer este proceso volvemos a procesar la muestra por el autoanalizador (Sysmex XE-2100) y se realiza otro frotis. Para la visualización de los frotis hemos utilizado el CellaVision DM de Roche, es un microscopio automatizado con cámara digital que mediante un software permite la clasificación y diferenciación celular mostrándonos las imágenes.

## Resultados:

En nuestro caso:

- Hemograma inicial : error en el recuento de la serie roja.
- Hemograma post incubación: normalización de los valores.
- Frotis inicial: presencia de hematíes agregados.
- Frotis post incubación: vemos que al someter la muestra a una temperatura de 37°C los hematíes se disgregan.



## Conclusión:

Ante una disminución del valor de los hematíes y hematocrito y un aumento desproporcionado del VCM y CHCM, debemos incubar la muestra y analizarla de nuevo. En nuestro caso podemos observar que se corrigen los resultados de la serie roja normalizándose. Si se corrigen parcial o totalmente las anomalías estamos ante una muestra compatible con presencia de crioaglutininas. Un correcto análisis de las muestras ante la aparición de los valores anteriormente mencionados, nos ayudará a evitar errores diagnósticos de anemia.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 088**

### DIAGNOSTICO DIFERENCIAL DE LA ENFERMEDAD DE VON WILLEBRAND MEDIANTE RISTOCETINA.

*Autor/a/s: Francisca Berral Baena, Antonio González Pacheco, Jesus María Díaz Campos, M<sup>a</sup> del Mar Ruiz González.*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen Macarena. Localidad: Sevilla*

*Correo electrónico del primer firmante: francis-berral@hotmail.com*

## Introducción:

La enfermedad de Von Willebrand (EvW) es el trastorno de la coagulación hereditario más común. A diferencia de la hemofilia que está ligada al sexo afectando sólo a los varones, la enfermedad de Von Willebrand se hereda de forma autosómica, afectando por igual a varones y mujeres. Puede ser heredada ó adquirida, en la heredada el fallo radica en el cromosoma 12 y 22, la adquirida puede ser secundaria a hipotiroidismo y enfermedades mieloproliferativas, se pueden clasificar también dependiendo de la alteración en cualitativas y cuantitativas, existiendo tres tipos: Tipo 1, 2 y 3, el tipo 3 se considera el más extraño y más grave.

En cuanto a la sintomatología de la enfermedad por lo general los enfermos sufren de hemorragias en las mucosas (epistaxis, hemorragias orales, menstruaciones abundantes, hemorragias genitourinarias, propensión a las laceraciones). En

casos poco comunes algunos enfermos pueden experimentar hemorragias articulares y musculares. La enfermedad de Von Willebrand está provocada por la disminución ó anomalía de una proteína denominada factor de Von Willebrand, también está íntimamente relacionada con el factor VIII.

#### Objetivos:

Diferenciar mediante análisis de laboratorio la enfermedad de Von Willebrand propiamente dicha de otras coagulopatías, averiguar de qué tipo se trata, si es heredada ó adquirida para así poder prescribirle al paciente el tratamiento adecuado.

#### Material y métodos:

- Tubos citratados al 3,2%.
- Tubos de sangre coagulada (Sin aditivos anticoagulantes).
- Pipetas Pasteur y micropipetas.
- Centrífuga a 3500 rpm.
- Triturus (Autoanalizador con técnica ELISA abierto y automático) Grifols.
- Analizador de coagulación BCS (Dade Behring).
- Analizador in vitro de la función plaquetaria. PFA 100 (Dade Behring).
- Calibradores y controles para los autoanalizadores.
- Ristocetina (antibiótico que se utiliza en la determinación de la enfermedad de Von Willebrand).

#### Resultados:

Se toman 159 muestras de pacientes con coagulopatías desde Febrero de 2012 hasta Enero 2013, de los cuales descartamos 121 muestras, sin sospecha, debido a un recuento plaquetario, tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPA), trombina y nivel de fibrina normales, quedando 38 muestras de las que se sospecha EvW, de las que 17 muestras presentan un déficit en el factor de Von Willebrand.

#### Conclusiones:

Gracias a los avances en técnicas de laboratorio se logra un diagnóstico acertado a pacientes con ésta coagulopatía, permitiendo en todo momento instaurarles a los pacientes la terapéutica adecuada a la enfermedad y se consigue un seguimiento exhaustivo por parte del servicio de hematología.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 089**

#### INDICADOR DE CALIDAD PARA LA DETERMINACIÓN DE HEMOGLOBINA EN SANGRE TOTAL

*Autor/a/s: Tully Sánchez María del Mar, Soisa López Carolina, Valero Chavez Francisco Javier y García Yun Purificación*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario Infanta Cristina. Localidad: Badajoz*

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

#### Introducción:

El laboratorio de Urgencias es un laboratorio automatizado e informatizado, en el que se intenta minimizar el tiempo de respuesta (tiempo entre que una petición llega al laboratorio y se envía), no obstante no debemos precipitar la determinación analítica a costa de perder eficacia en dicha determinación.

Debido a que en ocasiones queremos acortar ese tiempo de reacción, no se desarrolla la fase preanalítica adecuadamente, siendo esta de vital importancia para la obtención de resultados reales.

En el caso de la Hemoglobina, que es la proteína encargada del transporte de oxígeno, se demuestra con este estudio la importancia de la homogenización de la muestra en la fase preanalítica para evitar resultados erróneos.

#### Objetivos:

Comparar la hemoglobina, realizada en gasómetros ABL 800 Flex R, de un total de 1425 pacientes, con sus respectivos hemogramas, realizados en COULTER LH 750 R. Para determinar el tanto por ciento de error cometido en la fase preanalítica y evitar dichos errores. Se consideran erróneas las Hemoglobinas que medidas por el Gasómetro difieren en más de 2 g/dl de las medidas por el COULTER, que consideramos este último como referencia.

#### Material:

Sangre total con heparina, (Gasometría).  
Sangre total con EDTA, (Hemograma).  
Gasómetro ABL 800 Flex R.  
COULTER LH 750 R.

#### Métodos:

Para la determinación de hemoglobina en g/dl, en el COULTER LH 750 R, se realiza por fotometría con precisión comparable a la del método que consideramos de referencia. Y para la determinación de Hemoglobina en g/dl, por el Gasómetro ABL 800 Flex R, se realiza por sistema óptico basado en espectrofotometría.

#### Resultados:

Tras comparar 1425 gasometrías con sus respectivos hemogramas realizados y extraídos en un periodo de 3 meses a 1425 personas, se obtienen como resultado un porcentaje de error de 11.28%, de los cuales se determina que el 3.36%, es debido a la coagulación parcial de la muestra y el 7.92% es debido a la mala homogenización de la misma.

#### Conclusión:

En base a los resultados obtenidos, se puede deducir que la determinación de Hemoglobina mediante Gasómetro ABL 800 Flex R, conlleva errores debido a la coagulación y concentración de la muestra. Es importante llevar a cabo una fase preanalítica adecuada, destacando la correcta homogenización de la muestra.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 091**

#### DETERMINACION DE CrioAGLUTININAS. SIGNIFICACION CLINICA. ANEMIA HEMOLITICA AUTOINMUNE POR ANTICUERPOS FRIOS

*Autor/a/s: Francisca Berral Baena, Antonio González Pacheco, Jesús María Díaz Campos, Ana Dolores García Gutierrez, M<sup>a</sup> José Donoso Sayago, M<sup>a</sup> del Mar Alonso Durán*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen Macarena. Localidad: Sevilla)*

*Correo electrónico del primer firmante: francis-berral@hotmail.com*

#### Introducción:

Las crioaglutininas son aglutininas frías, autoanticuerpos IgM que hacen que los eritrocitos se agrupen. Son activas a temperaturas frías, reaccionan fuertemente a 4° C, cuando se evidencia aglutinación a temperaturas de 20° C ó mas se dice que son crioaglutininas de "amplitud térmica extensa". Se encuentran presente en muchos sujetos normales e interfieren en las tipificaciones dando reacciones cruzadas con mucha frecuencia.

Tienen significación clínica cuando su título es superior a 1/64, pudiendo causar síntomas como dolor en las extremidades, trombosis, hormigueos en el lóbulo de las orejas y punta de la nariz. Su aparición puede ser secundaria a infecciones tales como mycoplasma pneumoniae, algunos tipos de cirugía cardíaca (cuando la temperatura de perfusión oscila entre 15° C y 32° C), enfermedad idiopática por crioaglutininas.

Son responsables directas de las anemias hemolíticas autoinmunes por anticuerpos fríos, que serán mas relevantes cuanto mayor sea la amplitud térmica del anticuerpo pudiendo causar hemólisis severas, en la mayoría de los casos suelen remitir de forma espontánea, sobre todo si la hemólisis sobreviene por infección vírica.

La evolución de la anemia hemolítica dependerá de la etiología de la misma. Las asociadas a causas idiopáticas ó procesos linfoproliferativos así como las secundarias a infecciones suelen aparecer a los 5-10 días de finalizar la infección y su curación normalmente es espontánea.

#### Objetivos:

- Demostración de la presencia de autoanticuerpos reactivos en frío que se observan en el síndrome de aglutininas frías.
- Evaluación de anticuerpos IgM contra el antígeno I de las membranas eritrocitarias.
- Tipificación mediante paneles específicos (anti-I, anticuerpos fríos, anti-H y anti-P).

#### Material y métodos:

A) Suspensión de células al 3-5% en suero fisiológico de:

- Hematíes (pool) O de adulto.



- Hematíes (pool) O de cordón.
- Hematíes autólogos.
- Hematíes isogrupo del paciente.
- Hematíes O previamente tratados con enzimas (papaina).

B) Suero problema previamente separado y a 37° C.

- Panel de células (BIORAD).
- Estufa y centrífuga (BIORAD) a 37° C.
- Centrífuga de máquina lavadora de coombs. (BIORAD).
- Tubos de hemólisis.
- Pipetas Pasteur y automáticas.
- Tarjetas gelificadas en medio salino y coombs (BIORAD).

#### Resultados:

Tomando 9.476 muestras a las que se le realizan las pruebas cruzadas en el banco de sangre entre los años 2010 al 2012 de la base de datos del laboratorio de hematología del hospital Virgen Macarena se detectan 14 pacientes cuerpos positivos en el año 2010, 12 durante el año 2011 y 17 en el 2012. Haciendo un total de 43 escrutinios positivos en 3 años de los cuales una vez hechos los estudios correspondientes 5 de ellos presentan crioaglutininas.

#### Conclusiones:

A pesar de que las crioaglutininas tienen significación clínica cuando su título supera el 1/64, hemos podido comprobar que no son frecuentes, tienen una incidencia mas bien escasa entre los pacientes estudiados en nuestra área de inmunohematología

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 092**

#### TECNICA DE CRIOGLOBULINA PARA LA DETECCION DEL MIELOMA MULTIPLE

*Autor/a/s: RIVAS ALMAGRO, MARIA ELENA - QUIROSA MORENO, MARIA BELEN - MEDINA TORRES, ELOISA*

*Centro de trabajo: HOSPITAL GENERAL BASICO DE MOTRIL. Localidad: GRANADA*

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

#### Objetivos:

Estudia la positividad de crioglobulina en los estudios solicitados en nuestros laboratorios durante el periodo comprendido entre Enero del 2011 y Diciembre 2012. Son proteínas que precipitan a bajas temperaturas. Son inmunoglobulinas (Ig) de una sola clase, o complejos constituidos por mas de una clase Ig, los cuales están alterados de tal manera que son insolubles a bajas temperaturas. Esta alteración puede deberse a la fijación de antígenos o componentes del complemento antes o durante la precipitación. Las crioglobulinas son heterogéneas en tipo y pueden ser importantes en vasculitis y nefritis asociadas con enfermedades sistémicas.

#### Método:

Se han estudiado 50 sueros recién extraídos y mantenidos a una temperatura de 37°C durante 2 horas, hasta que se ha retraído el coágulo. Sin haber centrifugado la muestra se ha separado el sobrenadante y se ha colocado a 4°C.

Se ha realizado una primera lectura a las 24 horas y otra a las 48 horas. Teniendo en cuenta que aunque la primera lectura de negativa, siempre se debe hacer la segunda (pudiendo ser positiva).

Se considera positiva la presencia de gelificación, siendo negativa la no gelificación.

#### Resultados:

De los 50 pacientes estudiados en nuestro Laboratorio se han detectado crioglobulinas positivas en un paciente hombre, y en un paciente mujer, frente a un porcentaje muy elevado de negatividad del resto de los pacientes (96%).

#### Conclusiones:

La incidencia de muestras positivas por crioglobulina es muy baja en nuestro medio, posiblemente debido a que nuestra Área Sanitaria no existe consulta de enfermedades sistémicas, sino que estos pacientes son derivados a nuestro Hospital de Referencia.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 099**

#### ESTUDIO DEL DIAGNÓSTICO DE LA HEMOGLOBINA PAROXÍSTICA NOCTURNA

*Autor/a/s: Antonia María García Palomo, María de los Ángeles Balmaseda Serrano. María Estrella Madrid Martín de Lucía, María del Carmen de la Fuente Huerga.*

*Centro de trabajo: Ciudad Real. Localidad:*

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

#### Introducción:

La Hemoglobina Paroxística Nocturna (HPN) o Síndrome de Marchiava-Michelli, es una enfermedad que se origina por la mutación adquirida del gen PIG-A del brazo corto del cromosoma X. Es poco frecuente, con una prevalencia inferior a 5/10000. Desde el punto de vista clínico se define como una anemia hemolítica intravascular, con un grado de insuficiencia medular y tendencia a presentar fenómenos trombóticos. Enfermedad compleja multisistémica con complicaciones que pueden afectar a varios órganos diferentes del sistema hematopoyético.

El tratamiento hasta hace unos pocos años, se basaba en transfusiones de concentrados de hematíes, glucocorticoides y suplementos de hierro y ácido fólico.

La Introducción: del anticuerpo monoclonal anti-C5, Eculizumab ha supuesto un antes y un después en el tratamiento de la HPN.

#### Objetivos:

Seguimientos de los resultados analíticos desde ingreso, diagnóstico y tratamiento con Eculizumab, de una paciente con 34 años que ingresa en nuestro Hospital por una disminución de agudeza visual y dolor ocular (neuritis óptica). Presentando anemia normocítica normocrómica, leucopenia, ictericia, insuficiencia renal y orina colúrica.

#### Material y métodos:

Se realizan:

- Determinaciones hematológicas: hemograma, frotis sangre periférica, reticulocitos, haptoglobina, coombs directo, citometría de flujo y estudio de médula ósea.
- Determinaciones bioquímicas: urea, creatinina, bilirrubina total, transaminasas, amilasa, LDH, proteínas en orina.
- Determinaciones inmunoquímicas: proteinograma, inmunoglobulinas y complemento.
- Determinaciones serológicas.

#### Resultados:

	INGRESO (2/06/09)	2º DIA INGRESO (3/06/09)	POST-TRATAMIENTO CON ECULIZUMAB (17/12/09)
LEUCOCITOS	4300 miles/ul	3200 miles/ul	4300miles/ul
HEMOGLOBINA	6.4 g/dl	5.9 g/dl	12 g/dl
UREA	114 mg/dl	112 mg/dl	39 mg/dl
CREATININA	5.9 mg/dl	5.4 mg/dl	0.9 mg/dl
LDH	1504 UI/L	2910 UI/L	497 UI/L

Siendo el coombs directo negativo y los resultados de la citometría de flujo fueron:

- Expresión de CD55, CD59, CD66 granulocitario: 84%
- Expresión de CD14 monocitario: 90%

Se detecta un 84% de clon HPN

#### Conclusión:

Desde el tratamiento exclusivo con Eculizumab la paciente mejora sus resultados analíticos mejorando su calidad de vida, aunque el único tratamiento potencialmente curativo de la HPN es el alotrasplante hematopoyético con una elevada morbilidad.



### TEST DE COOMBS Y DETERMINACIÓN DEL RHD FETAL EN SANGRE MATERNA. INDICADORES DE ELECCIÓN EN LA PROFILAXIS Y TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD HEMOLÍTICA PERINATAL. (EHRN)

Autor/a/s: Rosario Mejías García, Amelia Martín Pascual, Soledad Torres Ulínes, Francisco de Paula Martín, Pilar Noguero Novella, Jose Antonio Perez Simón.

Centro de trabajo: Unidad de Gestión Clínica de Hematología y Hemoterapia

H.U. Virgen del Rocío Sevilla. Localidad: SEVILLA

Correo electrónico del primer firmante: mrm.8884@gmail.com

#### Introducción:

Los anticuerpos antieritrocitarios (Ac) son inmunoglobulinas IgG o IgM que pueden fijar Complemento. Cuando reconocen un antígeno eritrocitario se fijan al mismo en la superficie del hematíe.

Coombs ideó la forma de ponerlos en evidencia añadiendo una antiglobulina anti IgG, IgM y C, que hace de puente, atrayendo a los hematíes y produciendo aglutinación visible: Coombs Directo (CD).

Si el Ac está libre en el suero se puede pegar a unos hematíes O comerciales que contienen todos los antígenos conocidos, incubando a 37 grados y añadiendo a continuación la Antiglobulina: Coombs Indirecto (CI).

El CD y el CI sigue siendo el mejor indicador en el laboratorio de la presencia de Ac pegados a los hematíes, como sucede en el recién nacido (RN) de madre inmunizada, o libres en suero.

Más nuevo es el estudio del antígeno D fetal (RHD) por PCR en sangre de madres D negativas, que se aplica en la profilaxis con Gammaglobulina anti D a la madre.

#### Objetivos:

1-Detectar anticuerpos IgG en la madre que puedan pasar al niño y provocarle anemia 2-Demostrar Ac sobre los hematíes de los RN de madres isoinmunizadas. 3-Estudiar el RHD fetal en sangre materna en la semana 28 para la profilaxis anti D.

#### Material y Métodos:

En el año 2012 estudiamos los grupos ABO, Rh y el CI en Gel -Test a 9269 gestantes. Igualmente analizamos el grupo ABO, Rh y el CD a 1050 recién nacidos con ictericia o de madres inmunizadas. También analizamos en la semana 28, el RHD fetal a 1749 gestantes D negativas para seleccionar a las portadoras de fetos D positivos y negativos.

#### Resultados:

55 mujeres presentaron CI positivo, con la presencia de Ac clínicamente significativos como anti D, C, c, E, e, Cw, Jka, Fya y anti S, y otros no como anti M, N, y anti Lewis.

7 RN presentaron CD+ por isoinmunización y requirieron atención por Pediatría hasta el tercer mes de vida.

699 mujeres D negativas fueron portadoras de fetos RHD negativos y no necesitaron profilaxis preparto.

#### Conclusiones:

1-La prueba de Coombs indirecta es la de elección en el laboratorio de Inmunohematología para detectar anticuerpos clínicamente significativos en la madre durante la gestación.

2-Cuando estos aparecen es necesaria la intervención de los Hematólogos y Obstetras para el seguimiento de la posible anemia fetal y adoptar medidas terapéuticas como la transfusión de sangre intraútero (TIU).

3-Los RN con CD positivo al parto tienen Ac pegados a sus hematíes heredado de su madre y deben ser tratados por el Pediatra hasta que desaparecen hacia el tercer mes de vida.

4-En el programa de profilaxis materna anti D preparto, la determinación del RHD fetal en sangre materna por PCR es fundamental para evitar la Gammaglobulina anti D a las madres portadoras de fetos D negativos.

### DOS CASOS DE UNA FORMA INFRECIENTE DE LEUCEMIA AGUDA (L.A): LEUCEMIAS DE CELULAS DENDRÍTICAS PLASMOCITOIDES (LCDP)

Autor/a/s: LUCIA GALIANO, MINERVA RAYA, LIDIA RUIZ, SARA VERGARA, ESTER VIÑETS, JORDI JUNCA, TOMÁS NAVARRO.

Centro de trabajo: HOSPITAL GERMANS TRIAS I PUJOL. Localidad: BADALONA

Correo electrónico del primer firmante: luc\_anpa@yahoo.es

#### Introducción:

La leucemia de células dendríticas actualmente identificada como neoplasia plasmocitoide blástica de células dendríticas o LCDP, es una patología hematológica y oncológica muy infrecuente, con una incidencia extremadamente baja (<0.75% de las leucemias agudas y <0.7% de los linfomas cutáneos), altamente agresiva y con afectación primordial de la piel hasta en un 90% de los casos siendo por ello el principal motivo de consulta.

#### Objetivos:

Presentar dos casos que se estudiaron en el Hospital Universitari Germans Trias i Pujol en el 2004 y 2012.

#### Casos clínicos y metodología:

##### CASO 1 (2004)

Varón de 71 años que consulta por la aparición de lesiones cutáneas purpúricas en el tronco. A la exploración física presentaba mal estado general y lesiones cutáneas nodulares violáceas en tronco y extremidades superiores. Se palpaban adenopatías preauriculares latero cervicales y axilares bilaterales. Se realizó analítica completa y aspirado medular.

##### CASO 2 (2012)

Mujer de 79 años que consulta en el servicio de dermatología por la aparición de una lesión cutánea eritomatosa violácea con máculas de color púrpura en la calota craneal. Se realizó analítica completa y aspirado medular.

#### Resultados:

	CASO 1	CASO 2
Hemograma	Leucos totales 72,60 x10 <sup>9</sup> /L Hb 9,6 g/dL Plaquetas 59 x10 <sup>9</sup> /L	Leucos totales 11,60 x10 <sup>9</sup> /L Hb 12,4 g/dL Plaquetas 157 x10 <sup>9</sup> /L
Morfología de sangre periférica	Se vieron 84% células blásticas de gran tamaño, con núcleos de cromatina fina y un nucleolo visible; citoplasma amplio y basófilo, con abundantes vacuolas de localización submembranaria y sin granulación.	Se observa un 18% de blastos de medida grande, citoplasma amplio y basófilo, agranulares con núcleo de medida grande. Cromatina laxa y uno o más nucleolos visibles.
Inmunofenotipo sangre periférica	Positividad para: CD4/Dr/CD38/CD45/CD123/CD56.	Positividad para: CD4/CD43/CD33/CD38/CD7/Dr/CD45
Morfología de medula ósea	Infiltración prácticamente absoluta por blastos de características similares a los de la sangre periférica, núcleo lateralizado y algunas con morfología en "espejo de mango" por tener un pseudópodo citoplásmico.	Infiltración por células plasmocitoides blásticas con nucleolo evidente, pseudópodos y algunos con vacuolas pericitoplasmáticas.
Inmunofenotipo de medula ósea	CD2/CD4/Dr/CD38/CD45/CD123/CD56 *IF ganglio linfático CD4/CD38/CD56/CD45/CD123/Dr/CD7 débil.	CD7/CD4/CD123/CD38/Cd45/Dr/CD33/CD56 débil.

\*El inmunofenotipo del CASO 1 se realizó con un citómetro 4 colores (MCL EPICS) y el del CASO 2 con un citómetro de 5 colores (FC500)

#### Conclusiones:

Las LCDP son muy infrecuentes. Actualmente, se acepta que dichas células son de origen mielóide. Esta neoplasia suele afectar a la piel, infiltrando medula ósea y frecuentemente, los ganglios linfáticos. Se diagnostican mediante inmunofenotipo

con positividad para CD4, CD56, Dr, CD38 y CD123 juntamente con el marcador inmunológico BDCA2. Suele ser una leucemia muy agresiva con lo que, la respuesta al tratamiento es escasa. En el caso 1, debido al mal estado general no se pudo iniciar el tratamiento y falleció por fallo multiorgánico; y en el caso 2, la paciente inició el tratamiento con buena tolerancia pero al cabo de unos meses falleció por progresión de la enfermedad. El interés de los casos descritos radica en la importancia de considerar este diagnóstico entre cuadros leucémicos de morfología dudosa.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 125

## FRACCIONAMIENTO DE SANGRE TOTAL AUTOMATIZADA MACOPRESS SMART VS COMPOMAT G5

Autor/a/s: Maite Fernández Terán, Mercedes Martínez Álvarez, Marta Yáñez Izquierdo

Centro de trabajo: Centro de Hemoterapia y Hemodonación de Castilla y León. Localidad: Valladolid

Correo electrónico del primer firmante: Maiteft@yahoo.es

### Introducción:

EL proceso de separación de un sistema de bolsa de sangre total, se realiza a través de un procedimiento que incluye la centrifugación, así como su posterior fraccionamiento obteniendo diferentes componentes sanguíneos: Plasma Fresco Congelado, Buffy-Coats y Concentrado de Hematíes Leucorreducido, mediante un proceso de separación automatizada.

### Objetivos:

En el presente estudio se trata de comparar los resultados obtenidos de dos equipos fraccionadores diferentes: Macopress-Smart y Compomat G5, a través de un sistema de bolsa de sangre total.

### Material y métodos:

Se realiza el estudio de 48 bolsas de sangre total, (la mitad en cada uno de los equipos), haciendo una comparativa en cuanto a tiempos del proceso llevado a cabo. La medición se realiza en distintos momentos del procesamiento.

### Resultados:

Tabla 1: En la siguiente tabla se muestra la medición llevada a cabo de los dos fraccionadores en cuanto a la carga en cubiletes de las bolsas, centrifugación; realizándose la media de las diferentes bolsas de sangre total en cuanto a su fraccionamiento y filtración; recogiendo el tiempo total que tarda cada bolsa en cada uno de los equipos.

	COMPOMAT G5	MACOPRESS-SMART
<b>CARGA EN CUBILETES</b>	1 centrífuga =7 minutos	1 centrífuga =9 minutos
<b>CENTRIFUGACIÓN</b>	21,27 minutos	30 minutos
<b>FRACCIONAMIENTO</b>	3,04 minutos	5 minutos
<b>FILTRACIÓN</b>	18,46 minutos	23 minutos
<b>TIEMPO TOTAL</b>	49,77 minutos	67 minutos

### Conclusiones:

Una vez realizada la comparativa entre los dos equipos, se ha podido observar que en el equipo Compomat G5, el procedimiento llevado a cabo con una bolsa de sangre total es más rápido que en el equipo Macopress-Smart.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 133

## ESTUDIO DE LA TRANSFUSION EN LA ARTROPLASTIA DE RODILLA.

Autor/a/s: Francisco Lopez Ruiz, Francisca Garcia Guzman, Josefa Martinez Najera, Joaquina Viso Rodriguez, Pedro Francisco Molina Sanchez

Centro de trabajo: Unidad de Gestión Clínica Hematología-Hemoterapia del Hospital Universitario S. Agustín de Linares (Jaén). Localidad: LINARES (Jaén)

Correo electrónico del primer firmante: tropicado\_72@hotmail.com

### Introducción:

La artroplastia total de rodilla es uno de los procedimientos quirúrgicos más exitosos de la medicina. Sin embargo, es un procedimiento asociado a un potencial de sangrado importante; el índice de transfusiones después de una artroplastia es relativamente alto y, varios factores influyen en la pérdida sanguínea: edad, el peso, el sexo, las condiciones generales del paciente

Objetivo: Garantizar la seguridad Transfusional en pacientes sometidos a una artroplastia total de rodilla, garantizando su óptimo nivel de hemoglobina tras someterse a este proceso quirúrgico.

### Material y Métodos:

Se procesó un total de 90 peticiones de transfusión para aquellos pacientes que se sometieron a una intervención de artroplastia. En todos los casos se llevó a cabo el siguiente protocolo de actuación Transfusional:

- Grupo Hemático y sérico: con tarjeta Diamed monoclonal Diaclon AABO+Reverse Grouping. Para ello se emplearon hematíes comerciales ID-Diacell ABO A1 al 0,8% y hematíes comerciales ID-Diacell ABO B al 0,8%.
- Anticuerpos Irregulares y Auto-anticuerpos: en tarjeta Diamed Liss-Coombs, empleando para ello células comerciales ID-Diacell I Human suspensión 0,8%, ID-Diacell II Human suspensión 0,8% y células ID-Diacell III human suspensión 0,8%.
- Realizamos identificación de Anticuerpos Irregulares: ID-Panel, (cells for antibody identification) en tarjeta Diamed Liss-Coombs de 11 células, de la casa Bio-Rad.

Centrífuga Diamed modelo ID-Centrífuga 24S e incubador modelo Dima.

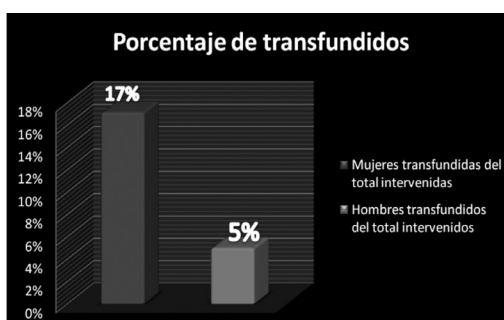
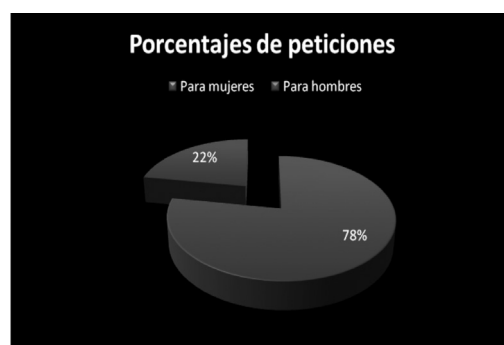
### Resultados:

De 474 peticiones de transfusión procesadas por el servicio de traumatología durante el año 2012 (de enero a diciembre de 2012) en nuestra Unidad de Gestión Clínica de Hematología-Hemoterapia del hospital Universitario San Agustín de Linares, 90 fueron peticiones para intervención de artroplastia, lo que supone el 18,98% del total de las peticiones recibidas en nuestro servicio. De esas 90, un total de 70 fueron para mujeres (77%) y 20 para hombres (23%).

Del total de mujeres intervenidas de artroplastia, 12 fueron finalmente transfundidas, lo que supone el 17,14%, mientras que solo 1 paciente del sexo masculino necesitó tratamiento hematológico (5%).

Total de concentrados de hematíes transfundidos 30:

- 28 concentrados en el caso de las mujeres
- 2 concentrados en el caso de hombres





### Conclusiones:

- La transfusión se realiza con una adecuada seguridad Transfusional, sistema de hemovigilancia protocolizada en nuestra unidad, para identificar todos los factores de riesgo y minimizar los errores de hemoderivados transfundidos.
- Con este estudio garantizamos una mayor calidad y trazabilidad en el proceso de transfusión.
- Las indicaciones de transfusión se basan en la consideración del estado de salud basal del paciente, y según la complicación surgida en la intervención.
- Del total de peticiones recibidas para intervención de artroplastia, el consumo en concentrados de hematies fue de 30 unidades, siendo las mujeres en 93,33% las que más concentrados de hematies necesitaron, mientras que en los hombres fue un total del 6,67%. del consumo, siendo significativamente menor.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 142**

### DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DE LAS EOSINOFILIAS EN PACIENTES LATINOAMERICANOS

*Autor/a/s: ROMERO GUTIÉRREZ CARMEN, CASTRO GONZALEZ ELISABETH, NIUBÓ PORTIS ANTONIA, NAVARRO BADAL ROSA, ALLENDE MONTCLÚS BLANCA, HERRERO OTERO SONIA, RODRIGUEZ PEREZ JOSEFINA.*

*Centro de trabajo: LABORATORI CLÍNICA L'HOSPITALET. Localidad: L'HOSPITALET (BARCELONA)*

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

### Introducción:

*Strongyloides stercoralis* es un nemátodo que se adquiere a través de la piel por contacto con suelo contaminado. Tiene distribución mundial aunque es más prevalente en áreas tropicales y subtropicales, especialmente en el Sudeste asiático, África subsahariana y Latinoamérica. En España existe una zona endémica en "La Safor", Valencia. La infección por *Strongyloides* suele ser asintomática aunque en ocasiones se asocia a procesos respiratorios, gastrointestinales o dermatológicos. En pacientes inmunodeprimidos puede presentarse como una infección diseminada potencialmente mortal. En la mayoría de los casos las *Strongyloidiasis* cursan con eosinofilia y en algunas ocasiones con anemia.

### Objetivo:

Conocer la etiología de las eosinofilia en inmigrantes latinoamericanos residentes en l'Hospitalet de Llobregat.

### Material y métodos:

Se realizó un estudio piloto en dos centros de Atención Primaria de L'Hospitalet (Barcelona) que atienden una elevada población inmigrante, durante el período Abril-Agosto de 2011, que consistió en hacer la serología de *Strongyloides* a los pacientes latinoamericanos que presentaban eosinofilia.

Los métodos utilizados fueron:

Recuento de eosinófilos en el autoanalyzer ABX Pentra DX120®. Las eosinofilia se clasificaron en tres niveles: leve (0.5-1x 10<sup>9</sup>/L), moderada (1-3x 10<sup>9</sup>/L) y severa (>3x 10<sup>9</sup>/L).

La detección de anticuerpos IgG mediante *Strongyloides* serum Microwell ELISA, IVC®, considerándose positivo si la absorbancia era >0.2 DO y dudoso entre 0.18-0.2 DO.

Examen microscópico (tres preparaciones) de las heces, posterior a la concentración con SAF(sodio acetato-acético ácido-formol). Paraprep L® (DiaMondial, France).

### Resultados:

Se estudiaron 115 pacientes de los cuales, 33 (28.7%) presentaban serología positiva.

En 18 pacientes (16%) había muestra de heces, siendo 12 negativas y 6 positivas (5 *Strongyloides stercoralis* y un *Ancylostoma/Necator*). Hubo 1 caso con serología negativa y visualización del parásito en heces.

Ecuatorianos y bolivianos representan un 67% de los pacientes estudiados, con serología positiva en el 36% de los casos. El 91.3% de los pacientes eran adultos.

En cuanto al nivel de eosinofilia, era leve en 91 (79%) y moderada en 24 (21%). No hubo casos de eosinofilia severa.

Países Origen	EOSINOFILIA		SEROLOGÍA			HECES	PARÁSITOS
	Leve	Moderada	Pos	Neg	Ind		
Ecuador	36	8	12	32	0	9	2 <i>Strongyloides</i> , 1 <i>Ancylostoma</i>
Bolivia	21	12	12	19	2	6	3 <i>Strongyloides</i>
Perú	10	0	3	6	1	1	1 Negativo
Rep.Dominicana	9	0	1	8	0	0	
Colombia	6	2	2	6	0	1	1 Negativo
Otros	9	2	3	8	0	1	1 Negativo

### Conclusiones:

La serología de *Strongyloides stercoralis* puede ser de gran utilidad para el diagnóstico etiológico de la eosinofilia en pacientes Latinoamericanos.

Destaca el bajo porcentaje (16%) de análisis coproparasitológicos solicitados en los pacientes con eosinofilia.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 151**

### ANTICUERPOS ANTIFOSFOLIPIDO EN NIÑOS ASINTOMÁTICOS

*Autor/a/s: HERNÁNDEZ ASENSIO PILAR; MIRANDA ALFARO GLORIA; QUESADA GARCIA M.JOSEFA*

*Centro de trabajo: HOSPITAL SANTA BARBARA. Localidad: SORIA*

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

### Introducción:

El hallazgo de alargamientos del tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA) con criterios de anticoagulante lúpico (AL) en un hecho poco frecuente en niños asintomáticos que con frecuencia precede a ciertos tipos de cirugía y posee un comportamiento clínico benigno

Pacientes y métodos

Se ha realizado un análisis de las características biológicas y clínicas de 13 niños con anticuerpos antifosfolípido (AAF) (media de edad al diagnóstico 5 años) a los que se realizó un seguimiento prospectivo (mediana 16 meses; rango 15-60). Se realizaron determinaciones de AL por técnicas coagulométricas según los criterios de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia y anticuerpos anticardiolipina (ACA) y antibeta2-glicoproteína I por técnicas de enzoinmunoanálisis (ELISA)

### Resultados:

Todos los casos de AL estudiados se diagnosticaron tras investigación de un alargamiento del TTPA detectado con anterioridad a cirugía (adenoidectomía, 8 casos; orquidopexia, 1 caso; cirugía oftalmológica, 1 caso), asociado a alguna infección vírica (mononucleosis infecciosa, 1 caso) o como hallazgo casual en una analítica de rutina (2 casos). Todos ellos eran de tipo primario y un 53.6% tuvieron carácter transitorio. Los ACA-IgG e IgM y antibeta2glicoproteína I fueron negativos en todos los casos. El 30.7% presentaron valores ligeramente reducidos de FXII: C (media 38.2 UI/dL). El diagnóstico de AAF no se vio acompañado de manifestaciones clínicas relacionadas con estos ni tampoco se comunicó hemorragia potsquirúrgica en ningún caso.

### Conclusiones:

Los AAF primarios representan un hallazgo poco frecuente en la población pediá-

trica asintomática que se ha descrito con relativa frecuencia en el preoperatorio de determinados tipos de cirugía (adenoidectomía y amigdalectomía) o infecciones víricas. Con frecuencia se trata de fenómenos transitorios de muy escasa relevancia clínica y que pueden acompañarse de valores ligeramente reducidos de factor XII, por lo que debe establecerse el diagnóstico diferencial con el déficit congénito leve de este factor.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 152

## USO CORRECTO DEL DIMERO- D EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS

Autor/a/s: MIRANDA ALFARO GLORIA; QUESADA GARCIA M. JOSEFA; HERNÁNDEZ ASENCIO PILAR

Centro de trabajo: HOSPITAL SANTA BÁRBARA DE SORIA. Localidad: SORIA

Correo electrónico del primer firmante: gmirandaalfaro50@hotmail.com

### Introducción:

El Dímero D es un producto final de la degradación de un trombo rico en fibrina mediada por la acción de la plasmina. Ha emergido como un test rápido y sencillo para la exclusión de la enfermedad tromboembólica venosa, en coagulación intravascular diseminada y en los últimos años en la predicción de la recidiva de trombosis venosa profunda. Tiene un alto valor predictivo negativo (98-100%) en las enfermedades tromboembólicas y es de gran utilidad para determinar la continuidad de anticoagulación en pacientes con un primer evento no provocado de trombosis venosa profunda.

### Objetivos:

Nuestro primer objetivo era saber en cuántos pacientes, dependiendo de su sospecha diagnóstica, estaba bien justificada la solicitud de la prueba o la misma podía considerarse inadecuada; el segundo objetivo, era conocer el valor que el DD tiene en la exclusión del tromboembolismo venoso en pacientes mayores de 80 años.

### Material y métodos:

Realizar un estudio sobre los 301 pacientes seleccionados al azar en el periodo comprendido, de enero del año 2012 a marzo del 2012 (ambos meses incluidos) que pasaron por nuestro servicio de urgencias, a los cuales se les solicitaba Dímero D.

Reactivos: STA Liatest Buffer D-DI, Sta Liatest D-DI, STA-Lia Cont N, STA-Lia Cont P (Diagnostica Stago, Francia)

Coagulómetro: STA-R (Diagnostica Stago)

Muestras extraída en tubo cuyo anticoagulante es citrato de 2.7 ml.

Soporte informático: OMEGA 4 (Roche Diagnostics).

Punto de corte para dímero-D: 0.5 mg/ml

### Resultados:

Se ha evaluado 301 pacientes (140 hombres, 161 mujeres), y obtenido los siguientes resultados:

Pacientes mayores de 80 años, Total: 86 Pacientes menores de 80 años, Total: 215

Casos en los que se consideró procedente solicitar D-Dímero según sospecha diagnóstica: 217 (72%)

Casos en los que no se consideró procedente solicitar D-Dímero según sospecha diagnóstica: 85 (28%)

Casos mayores de 80 años cuyo resultado de D-Dímero es mayor a 0.5 mg/ml: 82 (97.4%)

### Conclusión:

Según la sospecha diagnóstica de los pacientes estudiados, en un 72%, puede considerarse aceptable la solicitud del dímero-D. Debe mejorarse la selección de pacientes candidatos a analizar sus niveles de DD y en los que dicha información pueda ser realmente útil clínicamente

La proporción de pacientes mayores de 80 años con Dímero- D positivo ha sido 97.42 %. A tenor de estos resultados, podemos concluir que en las personas mayores de 80 años el Dímero-D no aporta ningún valor diagnóstico excluyente de la enfermedad tromboembólica venosa, por lo que no estaría indicado la solicitud de la misma en casos en los que exista dicha sospecha.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 153

## TROMBOSIS VENOSA PROFUNDA EN UNA NIÑA, ASOCIADA A LA PRESENCIA DE UN ANTICOAGULANTE LÚPICO TRANSITORIO

Autor/a/s: Quesada García, M<sup>a</sup> Josefa; Hernández Asensio, Pilar; Miranda Alfaro, Gloria;

Centro de trabajo: Hospital Santa Bárbara de Soria. Localidad: Soria

Correo electrónico del primer firmante: mjoquesada58@yahoo.es

### Introducción:

El síndrome antifosfolípidos es un estado autoinmune de hipercoagulabilidad causado por anticuerpos dirigidos contra los fosfolípidos de las membranas celulares. El síndrome ocurre debido a un desorden autoinmune. La enfermedad se caracteriza por dos grupos de anticuerpos

- Los llamados anticuerpos anticardiolipina dirigidos contra un componente de las membranas de las mitocondrias, la cardiolipina.

- El llamado anticoagulante lúpico, que son un grupo heterogéneo de anticuerpos dirigidos contra complejos fosfolípidos-proteína que tienen la característica de dificultar la cascada de coagulación.

### Objetivos:

Diagnóstico de una paciente de 9 años de edad que acude a Urgencias por cuadro febril de 1 semana de evolución y dolor a la deambulación en región inguinal y muslo izquierdo desde hace 24 horas.

### Material y métodos:

La ecografía de cadera y sistema venoso demuestra la existencia de una trombosis venosa profunda de la vena femoral y poplítea. Se inicia tratamiento con enoxaparina con monitorización de unidades anti-Xa y posteriormente acenocumarol. En el momento del ingreso presentaba un alargamiento del TTPA, siendo el tiempo de protrombina y la cifra de plaquetas normales. La investigación de dicha alteración demostró la existencia de un potente anticoagulante lúpico (AL). El estudio etiológico del cuadro febril demostró la existencia de un absceso a nivel del músculo psoas por Staphylococcus Aureus meticilín-resistente que precisó drenaje quirúrgico y antibioterapia sistémica con resolución del mismo. Se mantuvo el tratamiento anticoagulante durante 3 meses, al cabo de los cuales se repitió la determinación del AL, la cual demostró la desaparición del mismo. Por este motivo se suspendió el tratamiento anticoagulante oral. Se realizó estudio completo de trombofilia que mostró una elevación del FVIII (350%) como reactante de fase aguda; de hecho los niveles de FVIII se normalizaron a los 3 meses (148%).

### Resultados y discusión:

La tabla adjunta recoge los resultados del estudio de anticoagulante lúpico realizados al diagnóstico y en el momento de la reevaluación.

	Estudio inicial	Estudio 3 meses
TTPA/TTPAr (n≤1.2)	45.5"/1.07	36.8"/1.03
TP/TPr (n≤1.2)	13.9"/1.1	14.1"/1.07
PTT-LAr (n≤1.3)	1.6	1.14
StacLOT LA	Positivo	---
dRVVT screening ratio (n<1.2)	2.7	1.15
dRVVT screen/confirm*	2.03	---

\* dRRVVTscreen r/dRRVVTconfirm r: patológico>1.2

El AL forma parte (junto con los anticuerpos anticardiolipina y los anticuerpos anti-β<sub>2</sub>-glicoproteína I), de los llamados anticuerpos antifosfolípidos (AAF) cuya presencia se asocia a la aparición de fenómenos trombóticos en el territorio venoso o arterial. La presencia de trombosis en niños es muy infrecuente y con frecuencia se asocia a la existencia de algún trastorno trombofílico severo, cáncer en tratamiento quimioterápico, catéteres venosos centrales, síndrome nefrótico o sepsis graves. Los AAF pueden ser primarios (no asociados a ninguna otra patología; aparecen en personas sanas) o secundarios (asociados a la presencia de algún factor desencadenante) y ser asintomáticos o asociarse a la existencia de complicaciones trombóticas. Entre estos últimos las causas asociadas más frecuentemente son los trastornos autoinmunes (en especial el lupus eritematoso), las neoplasias sólidas o hematológicas (más frecuentemente los síndromes linfoproliferativos crónicos), los fármacos (sobre todo los antipsicóticos) y las infecciones, más comúnmente



víricas pero también ocasionalmente bacterianas. En estas últimas la presencia del anticoagulante lúpico puede ser transitoria y desaparecer varias semanas después de la resolución del cuadro infeccioso, tal y como ocurrió en nuestra paciente. La asociación de AAF y trombosis o abortos de repetición se conoce como síndrome antifosfolípido; los criterios actuales exigen que una vez que se detecta la presencia de un AAF en un paciente con trombosis se repita de nuevo la determinación del mismo pasadas al menos 12 semanas de la inicial para confirmar el diagnóstico y darle valor clínico

### Conclusión:

El hecho de que, como en nuestro caso, el anticoagulante lúpico fuera transitorio no es óbice para que pueda asociarse a complicaciones trombóticas.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 154**

## ESTUDIO RESTROSPECTIVO DE LA ISOINMUNIZACIÓN FETO MATERNO EN EL HOSPITAL COMARCAL DE LA AXARQUÍA.

*Autor/a/s: MARÍA JESÚS PRO JIMÉNEZ, AMALIA SANDRA GUERRERO CASA-SOLA, JUANA MUÑOZ CARABALLO, MANUEL MORAL LASTRES, M<sup>a</sup> SOLEDAD NIETO AGUADO.*

*Centro de trabajo: HOSPITAL COMARCAL DE LA AXARQUÍA. Localidad: TORRE DEL MAR*

*Correo electrónico del primer firmante: chusa15@hotmail.com*

### Introducción:

La enfermedad hemolítica del recién nacido es una afección fetal y del recién nacido producida por una destrucción de los hematíes fetales por la acción de anticuerpos IgG de la madre que atraviesan la placenta e interactúan con el antígeno paterno, presente en la membrana de los hematíes fetales. La madre se puede sensibilizar previamente por transfusiones o por otros embarazos.

La gravedad oscila desde anomalías hematológicas detectadas por pruebas de laboratorio hasta la muerte fetal intraútero. Para su detección precoz se realiza a toda gestante en el primer trimestre el grupo sanguíneo (ABO y Rh) así como el escrutinio de anticuerpos irregulares.

### Objetivos:

Conocer el porcentaje de isoinmunización feto materna y análisis de los anticuerpos más frecuentemente implicados, en las gestantes pertenecientes a la población de la comarca de la Axarquía durante el año 2012.

### Material y métodos:

Se han revisado todas las gestantes atendidas en nuestro hospital en el año 2012. Se realiza el grupo ABO y Rh, el escrutinio de anticuerpos irregulares. Otras variables revisadas han sido la edad, embarazos previos y escrutinio de anticuerpos irregulares en dichos embarazos, especificidad del anticuerpo detectado, titulación y si tiene implicación en la enfermedad hemolítica del recién nacido.

Las muestras se han trabajado con los equipos de automatización ECHO (IMMUCOR), y las titulaciones de los anticuerpos se han realizado en tubo diluyendo el suero de las pacientes y comparando en paralelo con la muestra precedente.

### Resultados:

De las 1464 gestantes durante el año 2012, 38 (2.5%) han presentado anticuerpos. De estas pacientes 32 (84.21%) han presentado un anti-D, de los cuales 30 son anti-D residuales por la administración de la gammaglobulina previa, y 2 son anti-D a título 1/8 y 1/64 en el primer trimestre.

2 inmunizadas por anti Kell (5.2 %) a título de 1/4, 1 inmunizada por anti-D+anti-C a título 1/1, 1 anti-s a título 1/1, 1 anti-P1 a título 1/1, 1 anti-Fya a título 1/256.

Una de las pacientes del anti-D y la del anti-Fya ya presentaban estos anticuerpos en un embarazo anterior. Se derivaron al centro de referencia para seguimiento y control obstétrico 3 pacientes (2 anti-D y 1 anti-Fya).

### Conclusión.

En el año 2012 hubo una isoinmunización feto materna significativa (implicada en la enfermedad hemolítica del recién nacido), de un 0.47% (7 pacientes), de las cuales 3 hubo que remitir al Hospital Materno Infantil para seguimiento. Los anticuerpos más frecuentemente implicados son el anti-D y el anti-K.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 157**

## ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE LAS ALARMAS DE BLASTOS EN EL HEMOGRAMA URGENTE

*Autor/a/s: Carmen Mendoza Ruiz, Begoña Gloria Varela Soto, Igone Imaz Allende, Aranzazu Díez de Diego, M. Mar Tueros Gomez, Concepción De la Prieta Ferrero, Francisco Javier Aguayo Gredilla*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO BASURTO. Localidad: BILBAO*

*Correo electrónico del primer firmante: carmenmendoza4@gmail.com*

### Introducción:

En el laboratorio de urgencias se procesan numerosas solicitudes de análisis de hemogramas. Los modernos contadores hematológicos, son capaces habitualmente de separar las diferentes sub-poblaciones leucocitarias, diferenciando muestras normales de muestras patológicas. En ocasiones, esta diferenciación puede ser compleja, apareciendo "alarmas" cualitativas que deben ser estudiadas (habitualmente mediante microscopía óptica), para evaluar la correcta clasificación automática que realizan los contadores.

### Objetivos:

El objetivo de nuestro estudio es ver la correspondencia entre las alarmas de blastos (AB), sospechosas de patología tumoral, que aparecen en el estudio de los hemogramas urgentes, con el diagnóstico final de estos pacientes.

### Material y métodos:

Se forma un equipo de técnicos de laboratorio supervisados por el Jefe del Servicio, que estudiaron las analíticas procesadas entre el 16 y 31 de Diciembre de 2012. Se seleccionaron mediante consulta estadística (Info-omega) al sistema informático del laboratorio (Omega), todos los hemogramas que presentaban alarmas en el contador hematológico (Sysmex-5000). El diagnóstico final de los pacientes, se obtuvo a partir del sistema informático hospitalario (Global Clinic). Se clasificaron los datos de los pacientes en función de su edad y sexo.

### Resultados:

Se encontraron 3.661 hemogramas urgentes, de los que 1.010 (27,6%) tenían alguna alarma. De estas 1.010 alarmas, 42 (4,2%) correspondían a AB. La mayoría de estas alarmas (18; 43%) aparecieron en niños menores de 5 años, correspondiendo a 17 cuadros infecciosos (infecciones urinarias e infecciones respiratorias fundamentalmente) y sólo se detectó un caso de enfermedad hematológica maligna (EHM).

Los 24 casos restantes, se encontraban muy dispersos en los diferentes rangos de edades. Los diagnósticos observados resultaron ser infecciones diversas (13;54%), EHM (7;29%) y procesos tumorales variados (4;17%).

No se encontraron diferencias significativas relativas al sexo en la presencia de alarmas o en el diagnóstico final.

### Conclusiones:

- \* El 72,4% de los hemogramas se clasificaron correctamente de forma automática, sin que aparecieran alarmas.
- \* Las AB son escasas (4,2%) aunque a menudo exigen un tratamiento laborioso para poder descartar la presencia de patología tumoral
- \* La mayor parte de las AB (30; 71%) no correspondieron a enfermedades hematológicas, si no que eran debidas a enfermedades infecciosas.
- \* Se observó un pico de incidencia de AB en niños menores de 5 años (18; 43%), debido fundamentalmente también a enfermedades infecciosas

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 168**

## MARCAJE DE PROLIFERACIÓN KI67 POR CITOMETRÍA COMO BIOMARCADOR ONCOLÓGICO

*Autor/a/s: Roldán Moreno, Jocabed; Rosich, Laia; Xargay, Sílvia; Colomer, Dolors.*

*Centro de trabajo: Centro Esther Koplowitz, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer. Localidad: Barcelona*

*Correo electrónico del primer firmante: JROLDAN@CLINIC.CAT*

## Introducción:

La proteína Ki67 fue definida originalmente por el prototipo monoclonal del anticuerpo Ki67, que fue generado inmunizando ratones con los núcleos del Linfoma de Hodgkin variedad de células L428.

El anticuerpo Ki67 reconoce a un antígeno presente en células que están en el final de la fase G1 y en las fases S-G2 y M del ciclo celular, pero no marca las células quiescentes (fase G0), por lo que se ha utilizado como un marcador de la proliferación celular. Este anticuerpo hasta hace poco sólo se utilizaba mediante técnicas de inmunohistoquímica en tejido congelado o en material fijado e incluido en parafina.

## Objetivos:

Poner a punto la técnica de detección de células en proliferación en líneas celulares de Linfoma de células del manto, mediante marcaje con Ki67 y análisis por citometría acústica y compararlo con la expresión de Ki67 mediante PCR cuantitativa.

## Métodos:

Para la detección de Ki67 mediante citometría (Attune, Life Technologies), las células se fijan con paraformaldehído, se permeabilizan con metanol y se marcan con su correspondiente isotipo y el anticuerpo monoclonal Ki67 (Anti-Human Ki-67 FITC Conjugate, Invitrogen). Estos anticuerpos están marcados con el fluorocromo isotiocianato de fluoresceína (FITC), lo cual nos permite analizar posteriormente el porcentaje de proliferación celular. Paralelamente se extrae ARN de las líneas celulares, se realiza la reacción de retro-transcripción y posterior PCR a tiempo real utilizando la sonda comercial (HS01032443-m1 MKI67, Applied Life Technologies) en el equipo Step-one 2.

## Resultados:

En las líneas celulares es posible la determinación de Ki67 con unas imágenes muy claras de positividad respecto al isotipo control. La fluorescencia media en la línea celular Jeko-1 es de 43991 y en la línea celular REC-1 de 67354. La expresión de Ki67 mediante PCR cuantitativa es de 0.4 para Jeko-1 y de 1.19 para REC-1 (Nivel de mRNA evaluado por PCR cuantitativa utilizando como calibrador el valor medio de todas las líneas de manto estudiadas).

## Conclusiones:

Se observa una correlación entre la expresión de Ki67 mediante citometría acústica y de PCR cuantitativa. La aplicabilidad de esta técnica en tumores humanos puede ser de gran relevancia ya que es una técnica más rápida que la inmunohistoquímica y necesita de muy poca cantidad de muestra. Además es una técnica cuantitativa, que puede ser de gran utilidad como marcador del curso clínico de la enfermedad.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 171**

### DETECCIÓN DE SÍNDROME MONONUCLEÓTICO A PARTIR DE LA REVISIÓN DEL FROTIS SANGUÍNEO

*Autor/a/s: Redondo González, M<sup>a</sup> del Pilar; Velilla Pina, Adoración*

*Centro de trabajo: CAPII DR ROBERT. Localidad: BADALONA*

*Correo electrónico del primer firmante: predondog.bnm.ics@gencat.cat*

## Introducción:

El síndrome mononucleótico (SMN), comprende un conjunto de síntomas y signos, que responden a variadas etiologías, caracterizado por cuatro manifestaciones clínicas: fiebre, faringitis, poliadenoesplenomegalia y erupción cutánea y un elemento paraclínico: leucocitosis mononuclear con linfocitosis atípica. El Virus de Epstein-Barr es la causa más común de SMN. Sin embargo, el citomegalovirus es la causa más frecuente de SMN con anticuerpos heterófilos negativos.

Las complicaciones que encontramos son: faringitis bacteriana secundaria, ruptura del bazo, anemia hemolítica auto inmune, trombocitopenia auto inmune, miocarditis, hepatitis e infección del sistema nervioso central con meningoencefalitis o mielitis transversa. Por ello las pruebas hematológicas y serológicas resultan de gran ayuda en el diagnóstico.

## Objetivos:

escribir la incidencia de casos en los que se detecta SMN a partir de los valores de alarma del hemograma y la consiguiente ampliación y revisión del frotis sanguíneo.

**MATERIAL Y METODOS** Durante el año 2012 en el laboratorio Barcelonés Nord y Vallés Oriental se realizaron 330.782 hemogramas de los cuales 208 presentaron criterios de revisión del frotis sanguíneo y se aplicó la ampliación de protocolo de pruebas serológicas.

Valores de alarma de hemograma a considerar para ampliar frotis sanguíneo:

- Linfocitosis absoluta  $>5 \times 10^9/\text{ul}$ .
- Linfocitos atípicos mayor del 10%.
- Trombopenia 50% de los casos.
- Leve desviación a la izquierda.

Características morfológicas compatibles con SMN

Linfocitos de mayor tamaño en sangre periférica, núcleo de cromatina madura con citoplasma amplio, vacuolado y de basofilia reforzada.

Especificaciones técnicas

- Hemogramas realizados por contadores hematológicos Sysmex XE-2100 (Roche Diagnostics).
- Revisión microscópica de frotis sanguíneo con tinción May-Grünwald/Giemsa.
- Prueba de Paul-Bunell, detección de anticuerpos heterófilos en látex (monogen BioKit)
- Detección de anticuerpos IgM contra la capsida del virus Epstein-Barr (Vidas Biomerieux)
- Detección de anticuerpos IgM de Citomegalovirus, quimioluminiscencia (Architect de Abbott).

## Resultados:

De las 208 pruebas serológicas ampliadas para descartar SMN, obtenemos la siguiente casuística:

41 fueron positivas para la prueba de Paul-Bunell.

De 167 negativas, se realizaron 43 IgM anti Epstein-Barr y en niños y adolescentes.

17 de ellas fueron positivas.

De las 124 restantes, se realizaron 76 IgM anti CMV y 34 fueron positivas.

## Conclusión:

Se confirmó la etiología del SMN en un 44% de los casos en los que se ampliaron serologías, a partir de la revisión del frotis sanguíneo.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 176**

### TECNICA DE ADSORCIÓN WARM

*Autor/a/s: Monika Aras Ibarzabal, M<sup>a</sup> Teresa Pérez de la Puente, Lia Tirado Garrido, M<sup>a</sup> Teresa Zurbano Díaz de Mendivil, Yolanda Gómez Alcibar, Eva Mellado Cano, Ana Bedia del Río, Olga Arberas Ibarrola, Irune Echabe Suarez, Dra. Itziar Pujana Zaldegi y Dr. JM Beltrán de Heredia.*

*Centro de trabajo: BANCO DE SANGRE. HOSPITAL UNIVERSITARIO BASURTO. Localidad: BILBAO*

*Correo electrónico del primer firmante: monika@irakari.jaztel.es*

## Introducción:

Cuando hay una solicitud de transfusión sanguínea a un paciente, el personal del banco debe encontrar la sangre más compatible para evitar posibles reacciones transfusionales. El primer paso es la investigación de anticuerpos irregulares, es decir, determinar la presencia de anticuerpos frente a la mayoría de antígenos eritrocitarios diferentes del sistema ABO. Cuando éstos son positivos, es fundamental identificar el anticuerpo implicado.

Hay ocasiones en las que existen aloanticuerpos enmascarados por la presencia de anticuerpos circulantes o adsorbidos en los eritrocitos del paciente y que pueden causar panaglutinación (todas las células del panel aglutinan).

La adsorción es el proceso por el que se retira del suero los anticuerpos circulantes. Se realiza en caliente a 37°C y se utiliza para remover los anticuerpos tipo IgG. Una vez que el anticuerpo es adsorbido, se realiza la identificación o las pruebas de compatibilidad.

El reactivo que nosotros utilizamos para llevar a cabo el proceso descrito es el ZZAP (disulfide activated proteolytic enzyme).

**OBJETIVO**

Nuestro objetivo es la aplicación de la técnica de adsorción WARM en dos casos presentados en el Hospital Universitario Basurto durante el año 2012.

### Material y métodos:

Se parte de dos tubos de sangre periférica con EDTA. Centrifugamos a 1000g., 3 min.

Rotulamos dos tubos de ensayo uno como plasma y otro como hematíes. Se aspira todo el plasma y se lleva a su tubo correspondiente. Aspiramos 1 ml. del botón de hematíes y se añaden 2 ml. del reactivo WARM. Mezclamos e incubamos 30 min. a 37°C. Se hace TCD (tiene que ser negativo).

Se añade a 1 ml. de hematíes, 1 ml de suero autólogo y se identifica como suero autoadsorbido.

Se enfrenta este suero con el panel de identificación de anticuerpos irregulares de 11 células y realizamos las pruebas cruzadas.

### Resultados:

Caso nº1: Varón 79 años. SMD. Anemia refractaria. Politransfundido. TCD positivo. El estudio de suero frente a un panel de hematíes de fenotipo eritrocitario conocido, muestra la existencia de anticuerpos irregulares de especificidad anti-D y anti-C. Las pruebas cruzadas se realizan con el suero del paciente autoadsorbido.

Caso nº2: Varón 68 años. LLC. Anemia severa. TCD positivo. Presenta panaglutinación. Tras técnica con WARM, TCD, paneles y pruebas cruzadas negativas.

### Conclusiones:

Una de las ventajas es que el tratamiento enzimático aumenta la eficacia de la adsorción.

Los enzimas desnaturalizan algunos antígenos como el M,N,S,Fya y Fyb.

Cabe mencionar que este tratamiento es muy útil para los casos de AHAI por anticuerpos calientes.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 179**

## EL RETO DE LA TRANSFUSION EN SITUACIONES ESPECIALES: DÉFICIT DE IGA

*Autor/a/s: GÓMEZ BARRAL, MELANIA; ABUIN OTERO, ANA BELÉN; ALONSO GARCÍA, MAR; CASTRO FANDIÑO, JOSE ANTONIO; BOTANA COUSELO, CARMEN; PÉREZ GONZÁLEZ, SANDRA.*

*Centro de trabajo: Centro de Transfusión de Galicia. Localidad: Santiago de Compostela*

*Correo electrónico del primer firmante: melania.gomez.barral@sergas.es*

### Introducción:

La transfusión sanguínea puede requerir, en ocasiones, el disponer de productos "especiales", procedentes de donantes "especiales". Los servicios hospitalarios de transfusión pueden enfrentarse a la necesidad de tener que proporcionar componentes sanguíneos para pacientes deficitarios de IgA, con o sin anticuerpos anti-IgA desarrollados. La prevalencia de déficit selectivo de IgA en la población general es de 1:500.

### Objetivos:

Mostramos la estrategia seguida en el Centro de Transfusión de Galicia para localizar donantes deficitarios de IgA, iniciada en el año 2006.

### Materiales y Métodos:

En nuestro Centro, a todos los donantes de sangre de aféresis se les realiza:

- Perfil Bioquímico: Cuantificación de proteínas totales, albúmina, IgA, IgG e IgM. Utilizamos una técnica de inmunoturbidimetría automatizada en el equipo OLYMPUS AU400, reactivos de Beckton Coulter.

Si la IgA del donante es menor de 20 mg/dl, realizamos el test:

- Biorad ID-PaGIA. Déficit de IgA. Inmunoensayo con partículas de gel.

Un resultado negativo indica que la IgA es menor de 0.050 mg/dl; se realiza, entonces, una técnica de identificación de anticuerpos anti-IgA:

- Biorad ID-PaGIA anti-IgA. Inmunoensayo con partículas de gel.

### Resultados:

Desde el inicio de la estrategia, han sido 49 los donantes detectados con IgA<20; de ellos, 35 finalmente han mostrado resultado menor de 0.050 mg/dl. A estos

últimos, se les ha aplicado un segundo test de detección de anticuerpos, un 29% de los donantes con déficit severo de IgA muestran además anti-IgA.

Los donantes han sido convenientemente informados:

1.- El déficit severo de IgA es causa de reacción severa transfusional, concretamente, de tipo alérgico anafiláctico.

2.- El donante es fidelizado, especialmente para la donación de plaquetas.

- El plasma procedente de donantes deficitarios de IgA es inactivado para su uso transfusional (con azul de metileno) y almacenado en un stock especial de PLASMA DE DONANTE DEFICITARIO EN IgA (caducidad 24 meses). En la actualidad disponemos de un stock de 21 unidades.

- El concentrado de hematíes, aún cuando es la primera elección para pacientes deficitarios, puede ser adecuadamente sustituido por un concentrado de hematíes random lavado: en nuestro Centro es la estrategia seguida.

### Conclusión:

Los Centros de Transfusión llevamos a cabo la extracción de sangre y el adecuado análisis y preparación de componentes sanguíneos.

No obstante, en ocasiones, se plantean situaciones especiales que hacen preciso disponer de componentes adecuados a dichas circunstancias, por lo general, en breve espacio de tiempo.

La estrategia descrita nos permite asumir una de ellas: la transfusión a pacientes con déficit de IgA y en un período siempre inferior a 48 horas (mucho menor, pocas horas, en el caso del plasma).

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 186**

## ESTUDIO INMUNOHEMATOLÓGICO EN EMBARAZADAS Y RECIÉN NACIDOS

*Autor/a/s: Virtudes Melguizo Morales, Esperanza Manuela Montoro Herrera y Jose Mª García Fidalgo*

*Centro de trabajo: Hospital Santa Ana. Localidad: Motril (Granada)*

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

### Resumen:

El screening de anticuerpos irregulares en embarazadas se realiza de manera rutinaria en el servicio de hemoterapia. Desde el año 1985 al 1997 se realizaba solo a embarazadas con Rh negativo, y desde el 1997, se realiza a todas las embarazadas.

Nuestro objetivo es evaluar la incidencia en nuestra población de aloinmunización materna y su trascendencia clínica en el Recién Nacido.

### Pacientes y métodos:

Entre los años 1985 y 2008 se han realizado 22329 determinaciones de grupo ABO, Rh y escrutinio de anticuerpos irregulares a las mujeres embarazadas. A todos los escrutinios positivos, se le montó panel de identificación y titulación.

A los Recién Nacidos (15245), se les determinó el grupo ABO, Rh y Coombs directo. A todos los Recién Nacidos con Coombs directo positivo, se les realizó la técnica de elución y la determinación de anticuerpos irregulares a la madre.

Todas estas determinaciones se realizaron con técnicas de aglutinación en gel (tarjeta DiaMed) y técnicas de elución.

### Resultados:

De los 22329 anticuerpos irregulares realizados a las embarazadas, se ha detectado positividad en 1055 casos (4,72%).

Se han identificado 483 aloanticuerpos (45,78 %), con especificidades: anti-D=314 (65,01%), anti-E=40 (8,28%), anti-c=15 (3,11%), anti-C=8 (1,66%), anti-Cw =7 (1,45%), anti-e=3 (0,62%), anti-Kell=23 (4,76%), anti-Duffy=4 (0,83%), anti-Lewis=28 (5,8%) (Lea =15 y Leb 13), anti-P1 =3 (0,62%), anti-MNS=20 (4,14%) (M=16, N=0, S=3 y s=1), anti-Luth=1 (0,21%) y aloanticuerpos combinados=16.

El número de Coombs directos realizados a Recién Nacidos, ha sido 15245, siendo positivos 909 (5,96%). De dichos positivos, 392 (43,12%) tienen anticuerpos irregulares maternos negativos (Isoinmunización ABO: anti-A= 325 (82,91%) y anti-B=67 (17,09%).

### Conclusiones:

El escrutinio de anticuerpos irregulares a todas las mujeres embarazadas resulta útil para detectar alo-anticuerpos clínicamente significativos, su seguimiento y tratamiento preventivo de posibles complicaciones en el feto.



El alo-anticuerpo de embarazadas más frecuentemente detectado es el anti-D, a pesar de la administración profiláctica de Gammaglobulina anti-D.

En los últimos años ha aumentado la incidencia de anticuerpos con especificidades anti-D, correspondiendo con la implantación en atención primaria del protocolo de administración de gammaglobulina anti-D en la semana 28; sería imprescindible exigir en la solicitud el dato de dicha administración.

Sería importante para futuros estudios, el seguimiento de las embarazadas con anticuerpos irregulares positivos y su evolución clínica, así como la realización de exangiotransfusión al Recién Nacido.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 189

## CONTROL DE CALIDAD EN LOS CONCENTRADOS DE HEMATÍES

*Autor/a/s:* Antonio Pérez Boo, Ana Aldrey, Ana Baños, Sandra Costoya, Javier Fernández, Lourdes López, María López, Dolores Pereiro, Susana Pérez, Marta Piñeiro, Rosa Rodríguez, Rosana Rego

*Centro de trabajo:* Centro de Transfusión de Galicia. *Localidad:* Santiago de Compostela

*Correo electrónico del primer firmante:* antonio.perez.boo@sergas.es

### Introducción:

Los Centros de Transfusión orientan sus objetivos a asegurar la calidad en cada uno de los eslabones de la cadena transfusional y garantizar la mejora continua de la calidad de la sangre y sus componentes. El control de calidad define las técnicas operativas y actividades encaminadas a evaluar la consecución de los requerimientos de la calidad, esenciales para la seguridad o utilidad clínica de los componentes.

### Objetivos:

Describir y analizar el control de calidad realizado durante el año 2012, en un Centro de Transfusión, a los hematíes leucodeplecionados en solución aditiva, entendiendo, como tal, el componente sanguíneo obtenido tras la eliminación, por filtración, de la mayor parte de los leucocitos del concentrado de hematíes y la adición de una solución nutritiva adecuada.

### Material y métodos:

Los hematíes se analizan a la caducidad de los mismos. Se calcula el volumen según su peso y la densidad. A continuación, previa agitación de la unidad, se toman muestras para cultivo aerobio y anaerobio en Bact-Alert 3D® (Biomérieux), análisis de leucocitos residuales por citometría de flujo (Becton Dickinson®) y hemograma (Sysmex 2000i®, Roche). Para determinar el porcentaje de hemólisis, se centrifugan 10 ml de muestra a 1300g durante 30 minutos, se mide la hemoglobina (Hb) del sobrenadante (HemoCue® Plasma / Low Hb) y se calcula según la fórmula: Hemólisis % de masa células rojas = (Hb sobrenadante / Hb total) x (100 - Hematocrito) (Cardigan y Smith, 2002).

Se usan como valores de referencia, la guía del Consejo de Europa sobre la calidad de los componentes sanguíneos, los estándares del Comité de Acreditación en Transfusión Sanguínea (CAT) y el Real Decreto 1088/2005, por el que se establecen los requisitos técnicos y condiciones mínimas de la hemodonación y de los centros y servicios de transfusión.

### Resultados:

Se han analizado para control de calidad un total de 1079 hematíes con el perfil analítico completo, obteniendo los resultados que se muestran en la tabla adjunta:

PARÁMETROS	Resultados	Referencia
Número de unidades.	1079	1%, >4u/mes
Volumen medio en mililitros.	282	270±50
Hematocrito media (%).	63,6	50-70
Hemoglobina media por unidad, en gramos.	53,9	≥40
% Unidades <1x10 <sup>6</sup> Leucocitos/unidad.	99,7%	≥90
Hemólisis media (g/dl y % mcr).	0,22 g/dl - 0,42%	< 0,8% mcr
% Unidades con contaminación bacteriana.	0,83%	(1)

(1) El cultivo bacteriano no identificó estafilococos coagulasa positivos, el 78% creció en medio anaerobio, el 66% *Propionibacterium* y *Corynebacterium* y 1 caso de *Bacteroides ureolyticus*.

### Conclusiones:

1. Los resultados se consideran satisfactorios, dentro de los valores de referencia.
2. La hemoglobina total por unidad refleja un valor muy por encima de lo requerido.
3. Los valores muestran la eficacia de la leucorreducción predepósito.
4. Entre los cultivos positivos, no se han identificado enterobacterias ni estafilococos coagulasa positivos, ambos con gran repercusión clínica.
5. La recomendación del CAT de analizar el 1% de los componentes requiere para los hematíes un importante esfuerzo, laboral y económico, de la UF de Control de Calidad.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 199

## DETERMINACIÓN DE HEMOGLOBINA PRE-TRANSFUSIONAL: DETECCIÓN DE ERRORES.

*Autor/a/s:* Sanz Cabrerizo, M<sup>a</sup> Isabel; Muñoz Expósito, Julián; Mateu Valldosera, Josepa; Albet Domènech, Teresa; Bravo Augé Anna

*Centro de trabajo:* Laboratorio Clínico Hospital de Viladecans. *Localidad:* Viladecans

*Correo electrónico del primer firmante:* sanz.hv@gencat.cat

### Introducción:

Desde el 2007 el laboratorio dispone de un sistema de Hemovigilancia, creado por la Conselleria de Salut (decreto 298/2006). En él se recogen todos los efectos y reacciones adversas de la transfusión sanguínea para ser posteriormente analizados detenidamente. Se dividen según el tipo de efectos producidos. Este estudio pretende centrarse en los casi-incidentes que son aquellos efectos que pueden causar un incidente/error pero que no llega a producirse. Y de ellos solamente los relacionados con las muestras diluidas.

### Objetivos:

El objetivo de la comunicación es analizar el efecto que tiene el hecho de comprobar la cifra de hemoglobina mediante la obtención de una determinación de hemoglobina pretransfusional. Observar las posibles discrepancias entre ellas y actuar sobre el problema.

### Material y métodos:

En nuestro laboratorio, la solicitud de un concentrado de hematíes va ligada de manera sistemática a la solicitud de una determinación de hemoglobina. De esta manera el técnico de laboratorio comprueba el resultado de dicha cifra de hemoglobina con la del hemograma anterior, que es el que ha generado la solicitud de transfusión. Si estas dos medidas no coinciden se solicita una nueva muestra, para comprobar cuál es el resultado que corresponde al paciente, y se notifica como casi-incidente. En el caso de que la cifra de hemoglobina pretransfusional sea la correcta y esté por encima de los umbrales establecidos para una correcta indicación transfusional y se continúe con la transfusión sin valorar otros aspectos clínicos que justifiquen la misma dejaría de ser un casi-incidente para catalogarse como error de prescripción.

El estudio se realiza durante los años 2008, 2009, 2010, 2011 y 2012.

### Resultados:

	2008	2009	2010	2011	2012
Casi-incidentes muestra diluida	3	5	6	4	5
Total de casi-incidentes notificados	7	10	5	14	
Errores	0	0	3*	0	2**
Total de muestras transfusiones	1561	1490	1479	1548	1583

\* Errores del 2010: Se deben a errores de transcripción, donde el médico apunta una cifra de hemoglobina antigua, de más de una semana.

\*\* Errores del 2012: un caso en el que el paciente es de la unidad de cuidados paliativos y se decide continuar con la transfusión como medida de confort al alta. El otro caso se detecta cuando ya ha finalizado la transfusión.

Una vez analizadas todas las discordancias se pone de manifiesto que la cifra de hemoglobina pretransfusional ha sido siempre más elevada que la cifra de hemoglobina que generó la solicitud de transfusión.



Se considera una discrepancia grave cuando la cifra de hemoglobina está dos puntos por encima respecto a la de la primera muestra.

La existencia de estas cifras de hemoglobina que discrepan con la muestra pre-transfusional se observa cuando se empiezan a notificar los casi-incidentes. En 2010, cuando ya queda asentado el Registro de Hemovigilancia se aprecia el aumento en la notificación de este tipo de casi-incidentes. Los errores de la administración de sangre a pacientes donde no estaba indicada la transfusión obligaron a investigar las causas. De esta forma a partir del 2011 se efectúa de manera sistemática una nueva determinación de hemoglobina previa a cualquier transfusión.

## Conclusión:

Disponer de la cifra de hemoglobina previa a la transfusión permite saber si la transfusión está bien prescrita y poder avisar al médico para que decida anular todas aquellas transfusiones que son innecesarias. Este hecho ha supuesto un ahorro de concentrados de hematíes, bien por anulación de la solicitud o por disminución de la cantidad de concentrados pedidos y ha disminuido los errores de prescripción. Evitar una transfusión innecesaria permite también evitar posibles efectos adversos inherentes al acto transfusional.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 208

## LA TRANSFUSION EN SITUACIONES ESPECIALES: "FENOTIPO ERITROCITARIO RARO"

Autor/a/s: ABUIN OTERO, ANA BELÉN; GÓMEZ BARRAL, MELANIA; BARALLO-BRE NAYA, SANDRA; ROCA OROSA, SONIA; DEL RIO GARRIDO, ANA; ATANES SOMOZA, M<sup>a</sup> DOLORES.

Centro de trabajo: Centro de Transfusión de Galicia. Localidad: Santiago de Compostela

Correo electrónico del primer firmante: anabelen.abuin.oter@sergas.es

## Introducción:

La transfusión sanguínea requiere en ocasiones de productos y por tanto de donantes "especiales". Una de las situaciones a las que los servicios hospitalarios de transfusión se enfrenta es la transfusión de pacientes con fenotipo eritrocitario poco frecuente, con o sin aloinmunización asociada.

## Objetivos:

En esta comunicación mostramos la estrategia seguida en nuestra comunidad para localizar donantes que puedan atender a las necesidades transfusionales especiales de nuestra comunidad o de otras (red nacional de fenotipos raros).

## Material y métodos:

Desde el principio de nuestra actividad, en el año 1993, y hasta la actualidad hemos ido implementando tecnologías para el fenotipado eritrocitario de nuestros donantes. En el momento actual:

- GRUPO ABO-Rh Microplaca OLYMPUS. Automatizada en PK-7300. Reactivos anti-A, anti-B, anti-AB, anti-D, anti-CDE, Rh control de la firma Immucor. Se realiza al 100% de las donaciones.
- Fenotipo eritrocitario Microplaca OLYMPUS. Automatizada en PK-7300. Reactivos anti-C, anti-E, anti-c, anti-e, anti-Kell de la firma Diagast. Se realiza al 19% de las donaciones.
- Fenotipo extensivo: Microplaca y técnica Capture en fase sólida. Automatizada en equipo Galileo (Immucor). Reactivos: Antisueños Cw/k/Kpa/Kpb/Fya/Fyb/Jka/Jkb/Lua/Lub/M/N/S/s/P1 de la casa Immucor. Se realiza al 2.8% de las donaciones.

## Resultados y conclusiones:

En la actualidad disponemos de más de 400 donantes con fenotipo poco frecuente. Entre ellos disponemos de 18 donantes Duffy nulo (alguno de ellos de raza negra), 370 k cellano negativos, 14 Lutheran b negativo...etc. Se trata de donantes muy valiosos para nosotros y especialmente para ellos mismos.

Disponemos desde hace algunos años de una técnica de genotipado eritrocitario que nos permite confirmar nuestros hallazgos (BLOODCHIP).

El CTG tiene diseñada una estrategia de información para este tipo de donantes basada en:

- 1.- Explicar el hallazgo.
- 2.- Fidelizarlo como donante especial.

3.- Ofrecerles alternativas para ellos mismos si en un futuro precisan transfusión: autodonación, criopreservación de unidades,...etc.

- En los últimos años (2010, 2011, 2012, principios del 2013) hemos atendido un total de 15 solicitudes: 4 Fya-/Fyb-, 1 Tja-, 6 k-, 1 r"r", 2 RzRz, 1 Lub-.asa Diagast. a OLYMPUS. Automatizada en PK-7300. mucor.tes que puedan atender a las necesidades transfusión. Estas peticiones pertenecen tanto nuestra comunidad autónoma, como a la catalana y a la de Castilla-León. Nuestro centro está incluido en una red nacional de búsqueda de unidades de fenotipo raro.
- En nuestra experiencia compartida por otros Centros de Transfusión se utilizan con mayor frecuencia C.H. procedentes de donación "dirigida": se localiza al donante se le extrae 1 CH (ó 2 por eritroaféresis) y tras su procesamiento se envía al servicio de transfusión para ser transfundido. Con menor frecuencia (urgencia vital) se utilizan C.H. criopreservados.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 217

## COMPARACIÓN FENOTIPO ERITROCITARIO PRE-TRANSFUSIÓN/POST-TRANSFUSIÓN.

Autor/a/s: Francisco Javier Pico Fernández; Teresa Rodríguez Requeiro; María Concepción Enriquez Nuñez

Centro de trabajo: Hospital Comarcal de Monforte de Lemos. Localidad: Monforte de Lemos

Correo electrónico del primer firmante: Francisco.Javier.Pico.Fernández@sergas.es

## Introducción:

El fenotipo eritrocitario es una técnica comúnmente utilizada en Servicios de Transfusión, como medio preventivo de aloinmunizaciones post transfusión, y en estudio de anticuerpos irregulares positivos como medio de valoración de concordancia en anticuerpos irregulares identificados, Coombs Directo, y presencia o ausencia del antígeno diana.

En pacientes con transfusiones previas en un tiempo inferior a 90 días, la bibliografía actual, determina que su valoración a de realizarse con sumo cuidado y es difícilmente interpretable.

## Objetivos:

- Determinar las interferencias en fenotipo eritrocitario post transfusión de sangre alogénica.

## Materiales y métodos:

- Se estudiaron, 4 pacientes transfundidos en el Hospital Comarcal de Monforte durante el mes de enero de 2013, con la característica de no haber sido transfundidos con anterioridad. Se obtuvo una muestra previa a la transfusión, y otra transcurridas 72 horas de la misma, ambas anticoaguladas con EDTA3K.
- Se realizó fenotipo eritrocitario las muestras obtenidas, así como los C.H. transfundidos a cada paciente, con el sistema de tarjetas gel Bio-Rad: ID-Diaclon Rh-Subgroups + K (c,C,E,e,K);ID- Diaclon ABO/D(A,B,AB,DVI+;DVI-) Y ID- Antigen Profile I,II,III (P1,Lea,Leb,Lua,Lub,k,Kpa,Kpb,Jka,Jkb,M,N,S,s,Fya,Fyb), utilizando para su procesamiento los equipos Swing Twinsample, Saxo ID-Reader (II), y el tratamiento de datos mediante el programa Maestro.
- Valorando a continuación la diferencia entre fenotipos pre y post transfusional.

## Resultados:

- Se reseñan a continuación, los resultados obtenidos, en las muestra pre y post transfusión, de los pacientes analizados, señalándose (sombreado) aquellos antígenos que presentan modificaciones en el estudio post-transfusión, en relación a la muestra pre-transfusión.

CASO	A	B	AB	DV+	c	C	E	e	K	P1	Lea	Leb	Lub	Lua	K	Kpa	Kpb	Jka	Jkb	M	N	S	s	Fya	Fyb
1 PRE	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
1 POS	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 PRE	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
2 POS	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+

CASO	A	B	AB	DV+	c	C	E	e	K	P1	Lea	Leb	Lub	Lua	K	Kpa	Kpb	Jka	Jkb	M	N	S	s	Fya	Fyb
3 PRE	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+
3 POS	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
4 PRE	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
4 POS	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+

### Conclusiones:

- Se han observado variaciones significativas del fenotipo post-transfusional, en relación a la muestra pre-transfusional.
- No es posible, obtener un fenotipo fiable en pacientes post-transfundidos.
- Las variaciones observadas entre fenotipos, hacen desaconsejable su uso, como medio preventivo de aloinmunizaciones, valoración de la concordancia de anticuerpos irregulares identificados, con las técnicas de Coombs.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 218

### FENOTIPO ERITROCITARIO EN SANGRE AUTÓLOGA TRAS SU SEPARACIÓN EN PACIENTES POST-TRANSFUNDIDOS.

Autor/a/s: Francisco Javier Pico Fernández; María Concepción Enriquez Nuñez; Teresa Rodríguez Regueiro

Centro de trabajo: Hospital Comarcal de Monforte de Lemos. Localidad: Monforte de Lemos

Correo electrónico del primer firmante: Francisco.Javier.Pico.Fernandez@sergas.es

### Introducción:

El fenotipo eritrocitario en pacientes no transfundidos, es una técnica habitual de los Servicios de Transfusión, como medio para la prevención de la aloinmunización, de la reacción transfusional, y para verificar la concordancia entre anticuerpos irregulares identificados y prueba de antiglobulina directa. En pacientes con transfusiones en los 90 días previos, el estudio es difícilmente interpretable, por la reacción cruzada entre la sangre autóloga y homóloga; siendo preciso su confirmación por PCR o cultivo de neocitos, realizados en centros de referencia, lo cual supone un aumento del tiempo de respuesta (mayor de 72h), no siempre asumible por los servicios de transfusión.

### Objetivos:

- Estandarizar un método de separación de hematíes autólogos; y homólogos (transfundidos), en función de su densidad.
- Valorar la degradación de los antígenos eritrocitarios obtenidos en el proceso.

### Materiales y métodos:

- Se estudiaron 8 pacientes transfundidos en el Hospital Comarcal de Monforte durante el mes de enero de 2013, con la característica de no haber recibido hemoderivados en los 90 días previos. Se obtuvo una muestra previa a la transfusión, y otra transcurridas 72 horas de la misma, ambas anticoaguladas con EDTA3K. De la muestra post transfusional se reservó una alícuota para posterior fenotipo y el resto de la muestra fue sometida al siguiente proceso: Centrifugación de la muestra 5 minutos a 1000 x g. Lavar los hematíes obtenidos 3 veces en suero salino, centrifugando el último lavado 10 minutos a 1000 x g. Retirar el sobrenadante. Llenar 15-20 tubos de microhematocrito no heparinizados, y centrifugarlos 15 minutos, cortar los microtubos 5mm por debajo del extremo superior de la columna de hematíes ( se obtendrán glóbulos rojos menos densos y por lo tanto más recientes), depositar los segmentos en un tubo de 12 x 75mm y resuspender en suero salino. Centrifugar 1 minuto a 1000 x g. A continuación transferir los hematíes obtenidos a un tubo limpio y lavar tres veces en suero salino. Resuspender los hematíes obtenidos en 150  $\mu$ l de suero salino. A continuación se fenotiparon las tres muestras obtenidas, así como los C.H. transfundidos a cada paciente, con el sistema de tarjetas gel Bio-Rad: ID-Diaclon Rh-Subgroups + K (c,C,E,e,K); ID-Diaclon ABO/D(A,B,AB,DVI+;DVI-) Y ID- Antigen Profile I,II,III (P1,Lea,Leb,Lua,Lub,k,Kpa,Kpb,Jka,Jkb,M,N,S,s,Fya,Fyb), utilizando para su procesamiento los equipos Swing Twinsample, Saxo ID-Reader (II), y el tratamiento de datos mediante el programa Maestro. Para que la interpretación de los mismo coincidiera con una extracción satisfactoria de hematíes autólogos, debía de al menos dos antígenos de los valorados, ser negativos en la muestra pre-transfusional, positivos en la muestra post-transfusional, determinando su positividad en los concentrados de

hematíes transfundidos, y su negatividad en la fracción de sangre autóloga obtenida de la muestra post transfusión. Para interpretar que los antígenos analizados no presentaban degradación tras su procesamiento, es preciso que el antígeno detectado en muestra pre-transfusional, lo sea también en la fracción de sangre autóloga obtenida

### Resultados:

Expresamos las características antigénicas diferenciadoras de las muestra pre/post transfusión y de la sangre homóloga obtenida tras el procesamiento de esta última, relacionándola con la presencia del antígeno en los Concentrados de Hematíes transfundidos.

	Caso 1		Caso 2				
	E	Fyb	DV+	DV-	C	P1	Fya
PRE-TRANSFUSIÓN	-	-	-	-	-	-	-
POST-TRANSFUSIÓN	+	+	+	+	+	+	+
CH, TRANSFUNDIDOS	+	+	+	+	+	+	+
SANGRE AUTOLOGA	-	-	-	-	-	-	-

	Caso 3			Caso 4			Caso 5		Caso 6	
	E	P1	N	E	P1	N	JkA	Leb	P1	LeB
PRE-TRANSFUSIÓN	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
POST-TRANSFUSIÓN	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CH, TRANSFUNDIDOS	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SANGRE AUTOLOGA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	Caso 7			Caso 8	
	c	P1	N	M	Fyb
PRE-TRANSFUSIÓN	-	-	-	-	-
POST-TRANSFUSIÓN	+	+	+	+	+
C.H. TRANSFUNDIDOS	+	+	+	+	+
SANGRE AUTOLOGA	-	-	-	-	-

RESTO DE COMBINACIONES ANTIGÉNICAS OBTENIDAS		
COMBINACIÓN 1	COMBINACIÓN 2	COMBINACIÓN 3
-	+	+
-	+	+
-	-	+
-	+	+

### Conclusiones:

Se ha podido determinar la validez del método para la obtención de hematíes autólogos y su posterior fenotipo.,

La combinación del método desarrollado y las tarjetas de fenotipo DiaClon ABO/D; DiaClon Rh-Subgroups+K, Profile I,II,III, permite detectar antígenos eritrocitarios en muestras pre y post transfusión, así como en los hematíes autólogos obtenidos sin que se observe degradación de los mismos.

Se ha podido determinar la fiabilidad del método desarrollado, que permite la obtención de fenotipos eritrocitarios fiables, en muestra de pacientes post transfundidos, en un tiempo aproximado de dos horas, con independencia de centros de referencia.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 223

### IMPORTANCIA DEL ESTUDIO CITOLOGICO DE SANGRE PERIFERICA EN EL DIAGNOSTICO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS.

Autor/a/s: Ruiz Ferri, Amparo.Rodríguez Camacho, María Luisa.Ruiz Ortega, Elena. Domínguez Lomeña, Mª José

Centro de trabajo: Hospital Comarcal de Melilla. Localidad: Melilla

Correo electrónico del primer firmante: amparo\_rufe@hotmail.com

## Introducción:

La extensión y tinción de la sangre periférica para estudio citológico constituye una técnica sencilla pero de gran importancia para el estudio de enfermedades hematológicas y otras entidades.

## Objetivos:

Describir tres casos clínicos en los que el estudio hematológico contribuyó al diagnóstico de diversas enfermedades infecciosas bacterianas y parasitarias.

## Casos clínicos:

### 1º CASO:

- Paciente de 41 años, procedente de la India. Residente en el Centro de Estancia Temporal de Inmigrantes de nuestra ciudad.
- Motivo de ingreso: Cuadro febril de 3 días de evolución, vómitos y deposiciones diarreicas. Antecedente de dos episodios de paludismo.
- Hemograma: Hb 13.8g/dl. Plaquetas 25 x 109/L. Leucocitos 4.80 x 109/L (N3.700, L500, M500).
- Morfología SP: Presencia de parásitos intraeritocitarios con morfología compatible con PLASMODIUM (sugestivo de falciparum).
- Traslado del paciente a la Unidad de Enfermedades Tropicales del H. Ramón y Cajal, con confirmación del diagnóstico.
- Comentarios: La gota gruesa y el frotis sanguíneo son los métodos clásicos para diagnosticar el paludismo. Son pruebas rápidas y sencillas que permiten identificar también la especie de plasmodium y el grado de parasitemia.

### 2º CASO:

- Paciente de 17 años, procedente de la República Democrática del Congo. Residente en el Centro de Estancia Temporal de Inmigrantes de nuestra ciudad.
- Motivo de ingreso: Cuadro febril de 3 días de evolución, dolor abdominal y afectación marcada del estado general. No refiere antecedentes infecciosos previos.
- Hemograma: Hb 14 g/dl. Plaquetas 47 x 109/L. Leucocitos 10.85 x 109/L (N8.990, L930, M910).
- Morfología SP: Presencia de múltiples formaciones en espiral con morfología compatible con BORRELIA.
- ADN Borrelia spp: Positivo.
- Comentarios: Las borrelias causantes de la enfermedad de Lyme, son microorganismos Gram negativos con marcadas ondulaciones, de tamaño pequeño, extraeritocitarios y extraeritocitarios, de difícil identificación, por lo que el diagnóstico se realiza básicamente de pruebas serológicas o moleculares.

### 3º CASO:

- Paciente lactante de 18 meses, procedente de Marruecos. Antecedente de parálisis cerebral severa.
- Motivo de ingreso: Cuadro marcado de afectación del estado general, sin poder precisar la duración del mismo al no disponer de informe clínico previo al ingreso y nula información por familiares. No adenopatías periféricas. Hepatoesplenomegalia.
- Hemograma: Hb 2.9 g/dl. Plaquetas 11 x 109/L. Leucocitos 21.60 x 109/L (N6.460, L13.110, M1.900).
- Morfología SP: Bicitopenia comprobada. Serie mieloide inmadura. Eritroblastos 8/100 células blancas. Presencia de elementos histiocitarios con inclusiones citoplásmicas, con morfología compatible con LEISHMANIA.
- La paciente es éxita a las pocas horas del ingreso, no pudiendo realizar estudio de médula ósea o estudio microbiológico/serológico/ADN confirmatorio.
- Comentarios: La leishmania es el agente causal del Kala-azar. Parásito especialmente las células del sistema mononuclear fagocítico, en cuyo citoplasma vive y prolifera. La punción esternal ofrece una positividad del 60 al 70%, mientras que sólo esporádicamente es observable en el frotis de la sangre periférica.

## Discusión:

- Los tres casos expuestos demuestran que la citología de sangre periférica constituye en muchos casos el primer paso para el diagnóstico de las enfermedades infecciosas, lo cual solo es posible con una correcta extensión y tinción de la muestra.
- Todos los pacientes son inmigrantes, por lo que parece obligatorio el despistaje de este tipo de procesos en pacientes procedentes de áreas endémicas que cursan con cuadro febril o deterioro del estado general, sobretodo si tienen expresión hemoperiférica.

## UTILIDAD DE LA DETERMINACIÓN DEL DIMERO D SEGÚN LA SOSPECHA DIAGNÓSTICA.

Autor/a/s: Teresa Rubín, M. Angeles Torres, Teresa Delgado, Arancha Galisteo, Dra Eva Yebra, Dra Mar D Goizueta, Dr Ramón Rodríguez

Centro de trabajo: Hospital Severo Ochoa. Localidad: Leganes (Madrid)

Correo electrónico del primer firmante: teresarubin@telefonica.net

## Introducción:

El área sanitaria en la que se encuentra nuestro Hospital, comprende las poblaciones de Leganés y Fuenlabrada, con aproximadamente 400000 habitantes.

El dimero D (DD), es un producto de degradación de la fibrina. El aumento de los niveles plasmáticos de DD indica la existencia de fibrinolisis y por tanto supone la formación previa de coágulos de fibrina, que acontece en una serie de procesos tales como: Enfermedad Tromboembólica Venosa (ETE), Coagulación Intravascular Diseminada (CID), Neoplasias, Sepsis, Disnea, Neumonía, Embarazo, Procesos inflamatorios y Hepatopatías. Se ha demostrado la utilidad clínica de la determinación del DD en el diagnóstico y seguimiento de dichas patologías.

La determinación del DD adquiere una mayor importancia en el diagnóstico de urgencia cuando un resultado negativo en pacientes de ciertas características clínicas, permiten descartar Enfermedad Tromboembólica Venosa (ETE) sin necesidad de recurrir a técnicas de imagen. Una de las principales limitaciones de la prueba, es que encontramos niveles de DD aumentados en múltiples patologías.

El objetivo de nuestro estudio es constatar que la determinación de DD deja de ser útil en determinadas situaciones clínicas, en las cuales casi siempre está aumentado.

## Material y métodos:

- Muestra: Plasma obtenido tras centrifugación de sangre citratada (3000 rpm/10m)
- Centrifuga de frío
- STA RackÒ (Roche)
- STA CompactÒ (Roche)
- STA Ò cubetas
- Pipetas automáticas
- STA Ò LIATEST Control normal/control patológico
- STA Ò LIATEST D-DI Buffer
- STA Ò LIATEST D-DI Latex

Se realiza una determinación cuantitativa del DD en plasma citratado mediante medición fotométrica, según un método automatizado.

## Resultados:

Se revisaron peticiones de estudios de coagulación que llegaron a nuestro laboratorio durante los meses enero y febrero del año 2013, contabilizándose un total de 200 peticiones de DD y dentro de ellas se tuvo en cuenta el valor de DD obtenido diferenciándose entre aquellas en las que el valor del DD era > 0.5ml de las que el valor del DD era < 0.5µL. Dicho resultado se relacionó también con la patología asociada.

DIAGNOSTICO	TOTAL	DD>0.5µL	PORCENTAJE
Enfermedad Tromboembólica Venosa (ETE)	58	25	58%
Sepsis	4	4	100%
Procesos inflamatorios	39	36	98%
Disnea	7	6	85%
Otros diagnósticos (aborto, dolor torácico...etc)	96	26	27%

## Conclusión:

La técnica para la determinación del DD utilizada, demuestra que en los pacientes diagnosticados de procesos inflamatorios o sepsis, el DD aparece aumentado prácticamente en la totalidad de los casos, por lo que resulta poco útil para descartar ETE.

# **VALOR DE LA CELL POPULATION DATA (DATOS MORFOLOGICOS AUTOMATIZADOS) DE LOS LEUCOCITOS NEUTROFILOS PARA EL DIAGNOSTICO PRECOZ DE LA SEPSIS TARDIA DE NEOTAS DE BAJO PESO. RESULTADOS DE UN ESTUDIO COOPERATIVO PROSPECTIVO.**

Autor/a/s: MARIA JESUS CAPEL\*, CARMEN RIBES\*, ISABEL MAINAR\* JOSEP PIQUERAS \*, OYTUN PORTAKAL\*\*, TOLGA CELIK\*\*, SULE YIGIT\*\*, ASLI PINAR\*\*, GULSEN HASCELIK\*\*, MURAT YURDAKOK\*\*, RAMON SIMON\*\*\*

Centro de trabajo: \*\* HOSPITAL UNIVERSITARI VALL D'HEBRON \*HACETTEPE UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL, BECKMAN COULTER\*\*\*. Localidad: BARCELONA

Correo electrónico del primer firmante: chuscapel@yahoo.es

## Objetivos:

El diagnóstico cierto y rápido de sepsis es muy importante para su tratamiento y pronóstico en neonatos porque la morbilidad y mortalidad es aun muy alta. Las pruebas de laboratorio clásicas propuestas para este tipo de pacientes son: el recuento absoluto de neutrófilos (ANC), el cociente de Neutrófilos Inmaduros / Neutrófilos Totales (IT Ratio) y la proteína C reactiva (CRP). Estas pruebas son baratas y rápidas y están incluidas en los llamados Criterios de Rochester para sepsis (Clínica Mayo, USA).

Sin embargo, su rendimiento no es óptimo y puede verse afectada por otros factores perinatales resultantes en una falta de sensibilidad para la detección de sepsis. El propósito de este estudio fue determinar el valor de los Cell Population Data (CPD) de los neutrófilos (La media del volumen de neutrófilos (MNV), la desviación estándar del volumen de los neutrófilos (NDW)) en la detección precoz de la sepsis del recién nacido y comparar con los otros marcadores de infección, como la PCR, los ANC y IT Ratio.

## Material y métodos:

Un total de 160 recién nacidos fueron incluidos en el estudio. Los sujetos fueron divididos en tres grupos: a. Grupo de la sepsis comprobada (SV), que fueron los bebés nacidos con síntomas de sepsis y hemocultivos positivos (n = 32), b. Grupo de la sepsis clínica (SC), así se consideraron los bebés con hemocultivos negativos, pero con signos clínicos de sepsis (n = 64), c. Grupo control: Que consistió en bebés con la misma edad "bebés sanos de muy bajo peso" (n = 64). Comparamos los casos con sepsis demostrada sepsis demostrada + sepsis clínica con los bebés del grupo control. La media (mín-máx) de los valores de peso al nacer fueron 1039 g (380 - 1500) para los bebés con sepsis y 1171. gr. (480-1500) para el grupo control. Los parámetros de CPD se determinaron en el Coulter LH750 y LH780 (dichos instrumentos de hematología utilizan la tecnología VCS para el análisis leucocitario). La determinación de ANC y IT Ratio se calculó examinando 200 células en el recuento diferencial de glóbulos blancos. La sepsis fue confirmada por cultivo de sangre y / o síntomas clínicos típicos de la sepsis. Solo los bebés nacidos de muy bajo peso (<1500 g) fueron evaluados, porque dicho grupo de recién nacidos prematuros que están en vías de desarrollo temprano de la infección, comúnmente tienen síntomas clínicos sutiles y no específicos, y el diagnóstico precoz es muy importante para su pronóstico.

## Resultados:

Proben Sepsis vs Control				Proben + Clinical vs Control				
Test	Sens	Spec	ROC-AUC	Cut-off	Sens	Spec	ROC-AUC	Cut-off
NDW	73.50%	87.18%	0.844	>30.3	62.50%	62.50%	0.707	>28.8
MNV	70.59%	74.36%	0.788	>148	62.50%	62.50%	0.646	>146.7
MNC	73.50%	71.80%	0.747	<138.3	65.60%	68.80%	0.682	<137.6
CRP	65.70%	90.00%	0.833	>0.4	54.55%	76.92%	0.712	>0.31
I/T Ratio	54.30%	95.00%	0.787	>0.18	80.81%	50.77%	0.703	>0.03
PLT	50.00%	88.50%	0.629	<150	48.45%	82.80%	0.645	<179
Hgb	97.10%	58.40%	0.827	<16.2	83.51%	62.50%	0.781	<14.9
NDW + CRP	80.00%	82.50%	0.846	>30.34	62.63%	67.69%	0.708	>29.64
MNV + CRP	79.41%	66.67%	0.806	>147	63.54%	64.06%	0.664	>147
I/T Ratio+CRP	85.71%	85.00%	0.87	>0.42	62.63%	76.92%	0.736	>0.42

## Conclusiones:

Los resultados muestran que: Cell Population Data (Datos morfológicos celulares automatizados) son un valioso marcador en la sepsis del recién nacido. El mejor de ellos es el ancho de distribución de los neutrófilos (ADNE) con una sensibilidad del 73,5% y una especificidad del 87,2%.

- El rendimiento de los CPD en los bebés recién nacidos de muy bajo peso es similar a los del PCR y mejor que la proporción entre, el Neutrófilos totales y la cifra de leucocitos
- La combinación de CPD con la PCR da el mejor resultado en los recién nacidos en el grupo de muy bajo peso (<1500 gr.)

Resumen Comunicación Científica - ORAL

# **POBLACIONES DE LINFOCITOS DE SANGRE PERIFÉRICA EN PACIENTES CON ALCOHOLISMO CRÓNICO**

Autor/a/s: Luis Martins<sup>1,2</sup>, Fernando Mendes<sup>1</sup>, Julia Almeida<sup>3</sup>

Centro de trabajo: <sup>1</sup>Departamento de Análisis Clínicos y de Salud Pública, Coimbra Health School, Portugal, <sup>2</sup>Laboratório Clínico del Hospital de Distrito de Figueira da Foz, <sup>3</sup>Departamento de Medicina, Universidad de Salamanca. Localidad: Coimbra

Dirección del primer firmante: Escola Superior de Tecnologia da Saude de Coimbra Rua 5 de Outubro

Correo electrónico del primer firmante: fjmmendes@estescoimbra.pt

## Introducción:

El consumo de alcohol es una causa principal de enfermedad hepática, que puede causar diferentes enfermedades en el cuerpo humano, tales como: hígado graso alcohólico, la esteatohepatitis alcohólica (EHA) y cirrosis alcohólica. El alcoholismo crónico (AC) es normalmente la ingesta de tres a cinco bebidas alcohólicas diarias en el hombre y en la mujer de más de dos, por un período prolongado de tiempo.

## Objetivo:

Caracterizar la distribución de la mayor B y T subpoblaciones linfoides presentes en la sangre periférica de los pacientes AC que buscan establecer su posible papel en la patogénesis de la enfermedad aguda del hígado.

## Material y Métodos:

Se estudiaron 20 pacientes, todos de sexo masculino, que se distribuirán en dos grupos. Grupo I, 10 alcohólicos crónicos, con un consumo de más de 90 g de etanol/día y el consumo de etanol activo en la inclusión en el estudio, sin un diagnóstico de la esteatohepatitis alcohólica, el Grupo II, 10 alcohólicos crónicos, con un consumo superior a 90 g etanol/día de ingesta de etanol activo en el momento de la inscripción en el estudio y diagnóstico de la esteatohepatitis no alcohólica y un grupo control consistió, 10 voluntarios sanos de sexo masculino con un alcohol inferior a 20g/día. La caracterización y la cuantificación de las células inmunes recurrido a la citometría de flujo multiparamétrica con los respectivos anticuerpos monoclonales específicos para las células del sistema inmune.

## Resultados:

Se observó un aumento en los isotipos IgM LB de memoria y linfoplasmócitos, en detrimento de los que hicieron el "switch" isotípico, el aumento de las poblaciones de células T doble positivas y negativas doble efector, y sobre todo una disminución en el número de células T reguladoras en el grupo de los alcohólicos con esteatohepatitis alcohólica, grupo alcohólico vs control y no esteatohepatitis alcohólica.

## Conclusión:

Nuestros resultados sugieren un proceso inflamatorio agudo hepatitis alcohólica, con intervención del sistema inmune, mediante la observación de un aumento en las células de la respuesta innata, tales como neutrófilos y monocitos, así como los cambios en la distribución de las poblaciones T y B linfoides, que podrían contribuir a explicar el estado de activación de la característica del sistema inmune en el alcoholismo.

## Palabras clave:

Alcoholismo crónico, inmunidad innata, inmunidad adaptativa, linfocitos, Esteatohepatitis alcohólica.



# INMUNOLOGÍA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 004

## IMPLEMENTACION DE LA DETERMINACIÓN DE LOS ANTICUERPOS ANTIENDOMISIO IGA EN EL LABORATORIO DEL HOSPITAL LUCUS AUGUSTI DE LUGO.

Autor/a/s: RODIL FERREIRO, REBECCA; OROL MASEDA, SUSANA; CASTRO NEIRA, ICIAR; LOPEZ VILA, MARI FE; LOPEZ LOPEZ, MARIA ISABEL; GOY LOPEZ, MARIA CARMEN; CABO DEL RIEGO, JULIA

Centro de trabajo: Hospital Universitario Lucus Augusti. Localidad: Lugo

Correo electrónico del primer firmante: rebecca.rodil@gmail.com

### Introducción y Objetivos:

Recientemente, en el último Congreso de la EPSGAN (Sociedad Europea de Gastroenterología Pediátrica, mayo 2011), se discutió sobre la necesidad de nuevos cambios en los criterios diagnósticos actuales en la enfermedad celiaca (EC). Como conclusiones de este grupo de trabajo se han publicado nuevas guías clínicas para el diagnóstico de EC que incluyen el estudio de marcadores serológicos: anticuerpos antitransglutaminasa tisular IgA (aTTG), los anticuerpos antiendomiso IgA (EMA) y marcadores genéticos HLA DQ2-DQ8, siendo posible el diagnóstico de EC sin biopsia en determinados casos.

En nuestro Hospital se implantaron estos nuevos criterios, por lo que se incrementó el número de peticiones de anticuerpos antiendomiso Ig A como confirmatorios de EC en pacientes con aTTG positivos y posibles candidatos al diagnóstico sin biopsia intestinal. Este aumento de la demanda motivó que se planteara la implementación de estos anticuerpos en nuestra cartera de servicios del laboratorio.

### Material y métodos:

Se procesan 44 muestras de pacientes seleccionados con Ac aTTG Ig A positivos y/o negativos, incluyendo en el estudio, pacientes con Ac antiendomiso estudiados en el laboratorio externo, (Referens, Barcelona), positivos a título alto, que se utilizaron como control para nuestro estudio. Igualmente se procesó el control externo (programa NEQAS) que se incluye en el programa "CD: anticuerpos asociados a enfermedad celiaca", y muestras problema pertenecientes a pacientes de nuestro centro hospitalario con anticuerpos antitransglutaminasa IgA positivos y negativos.

El test utilizado para el estudio se basa en la inmunofluorescencia indirecta (IFI), que se realiza sobre Portas de NOVA Lite® (Izasa) que utiliza como sustrato cortes de esófago de mono. Los anticuerpos endomisiales Ig A se detectan con el conjugado IgA FITC anti-humano. Los portas se observan mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI) en los casos positivos se observa un patrón típico reticular.

### Resultados:

El estudio se realiza en tres series, en días consecutivos. Como controles positivos, se procesan además del comercial, el suero de una paciente celiaca diagnosticada mediante biopsia duodenal (grado Marsh III) con resultado positivo del laboratorio externo 1:640 Se procesan diluciones seriadas del mismo.

Para comprobar la precisión intradía se analizan por triplicado 3 muestras y 3 controles en la segunda serie. Para comprobar la precisión interdía se repiten los controles, 3 muestras positivas y 3 muestras negativas en la tercera serie. Resultados satisfactorios en las tres series.

En todas las series se tienen en cuenta los resultados de Anticuerpos Antitransglutaminasa tisular Recombinante Humana IgA, Phadia® (aTTG) y los anticuerpos anti gliadina deaminada (Phadia®) cuando proceden.

Los resultados obtenidos son los siguientes: 16 resultados positivos: título 1:10 aTTG<10; título entre 1:10 y 1:320 aTTG entre

20-100; título 1:640 o sup aTTG>100 UI/mL; 24 resultados negativos aTTG negativo <2 en todos los casos; 4 resultados dudosos +/-neg: dos de ellos corresponden a EC a tratamiento con dieta libre de gluten (DSG), con aTTG positivo; un caso que corresponde a un hipotiroidismo y que requiere seguimiento y valoración de posterior biopsia; y por último un caso que corresponde a valores de aTTG en límite de normalidad.

### Conclusiones:

Tanto los resultados positivos como negativos se confirman y correlacionan con los anticuerpos Antitransglutaminasa tisular. En los casos dudosos sirven para ayudar a tomar la decisión sobre la necesidad de biopsia en función de la clínica.

Los resultados obtenidos son transferibles, por lo que los anticuerpos antiendomiso Ig A por IFI pueden ser determinados en nuestro laboratorio, siendo de gran utilidad, ya que un resultado positivo es una evidencia confirmada de EC e igualmente útiles en la monitorización del tratamiento con DSG.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 018

## RELACION ENTRE LA ARTRITIS REUMATOIDE TRATADA CON RITUXIMAB Y EL EPÍTOPO COMPARTIDO.

Autor/a/s: MORENO CASARES, ANTONIA MARIA; GOMEZ MORENO, EVA MARIA; GARCIA HUERTAS, EVA MARÍA; MARTÍN CASARES, ANTONIA MARÍA; SANCHEZ MALDONADO, JOSE MANUEL; LOPEZ NEVOT, MIGUEL ANGEL.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Localidad: Granada

Correo electrónico del primer firmante: tmcgranada@hotmail.com

### Introducción:

La Artritis Reumatoide es la enfermedad crónica autoinmune sistémica más frecuente y se caracteriza por una inflamación y deformación progresivas en las articulaciones grandes y pequeñas, de manera simétrica con predominio distal de las extremidades inferiores y superiores.

Los síntomas predominantes son dolor, rigidez e inflamación de las articulaciones periféricas, conforme avanza la enfermedad se produce una destrucción progresiva de la estructura ósea y pérdida de cartílago con daños en estructuras blandas como ligamentos y tendones.

Los factores de pronóstico de severidad en la Artritis Reumatoide son la presencia del Factor Reumatoide (auto-anticuerpos, generalmente de tipo IgM, dirigidos contra el fragmento Fc de la IgG en suero), la presencia del epítipo compartido de HLA-DRB1, la infiltración de linfocitos, la hiperactividad de macrófagos, la producción local de citocinas inflamatorias y finalmente la presencia de anticuerpos frente a péptidos de citrulina.

### Objetivos:

Las células B autoreactivas juegan un papel importante dentro de la patogenia de la Artritis Reumatoide lo que justifica el tratamiento con Rituximab (anticuerpo monoclonal quimérico de ratón y humano que reconoce al CD20) que se acompaña de mejoría clínica en la mayoría de los casos. No obstante existe un porcentaje variable de pacientes (20-30%) que no responden a la terapia con Rituximab sin que se sepa hasta ahora la causa. La hipótesis de trabajo planteada va dirigida a establecer si la respuesta a Rituximab está condicionada por el Epítipo Compartido de HLA-DRB1.

### Material y métodos:

- Para el análisis se han estudiado 99 muestras de pacientes tratados con Rituximab, 74 con buena o moderada respuesta (BR) y 24 sin respuesta clínica (NR) al tratamiento.
- Se realiza la extracción de ADN mediante el robot de extracción automática Genovision M-48 y Maxwell.
- El tipaje HLA de HLA-DRB1 y de HLA-DQB1 se realizó utilizando la tecnología xMax para citometría de flujo en los equipos de Luminex, desarrollada por One Lambda en sus kit de tipaje HLA genómico rSSO LABType donde las sondas alelo específicas se unen a microesferas con una fluorescencia determinada que permite diferenciarlas unas de otras. Sobre estas esferas se produce la hibridación del amplificado del locus correspondiente, se revela a continuación con PE-estreptavidina y se detecta la fluorescencia de cada grupo de esferas en el equipo de Luminex con el Software LABscan 100TM. La interpretación y asignación del tipaje HLA se realiza con el software HLA-Fusión. Para HLA-DRB1 la referencia del kit fue RSS02B1 y para HLA-DQB1: RSS02Q.

## Resultados:

Cuando se comparan los grupos de respuesta a Rituximab en función de la presencia del epítipo compartido HLA-DRB1, se detecta que en los pacientes que no tienen el epítipo compartido existe un mayor porcentaje de respuesta [29 (85,29%)] frente a [46 (68,66%)] en el grupo de pacientes con epítipo compartido, pero esta diferencia tampoco es significativa aunque la p está cerca  $p=0,071$  del valor de significación ( $p=0,05$ ).

## Conclusión:

Los datos del presente trabajo indican la existencia de una probable asociación entre la falta de respuesta al tratamiento con Rituximab y la presencia del epítipo compartido de HLA-DRB1. Es necesario por tanto para confirmar esta tendencia aumentar el número de casos del estudio.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 067

### INCIDENCIA DE LA ENFERMEDAD CELIACA EN EL AREA SANITARIA DE LUGO DISTRIBUCIÓN POR EDAD Y SEXO.

Autor/a/s: LOPEZ VILA, MARI FE; RODIL FERREIRO, REBECCA; OROL MASEDA, SUSANA; BARREIRO CASTRO, BELEN; CABO DEL RIEGO, JULIA.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Lucus Augusti. Localidad: Lugo

Correo electrónico del primer firmante: mflopvil@gmail.com

## Introducción y objetivo:

La enfermedad celiaca (EC) es una intolerancia permanente al gluten, que produce lesiones en la mucosa intestinal, cuyas manifestaciones clínicas pueden ser variadas y afecta a individuos genéticamente predispuestos.

Nuestro objetivo es calcular la incidencia de esta enfermedad en nuestra área en pacientes previamente seleccionados por los clínicos, a los que se les ha solicitado el estudio de EC (marcadores serológicos) en nuestro laboratorio, y determinar su distribución por edad y sexo.

## Material y métodos

Se determinan los Ac antitransglutaminasa tisular IgA (aTTG) mediante fluoroinmunoensayo en un analizador Inmunocap 250 (ThermoFisher®), considerando los siguientes valores de referencia <2 U/mL negativo; 2-8 U/mL seguimiento/biopsia; >8 U/mL positivo. Previamente se determina los niveles de IgA en todos ellos.

En el período que comprende enero a diciembre de 2012, se realizó la determinación de aTTG a 2457 individuos

## Resultados:

En el 4,45% de estos individuos (n=110) se obtuvo un valor de aTTG  $\geq 2$  U/mL.

La media de edad de estos 110 individuos es de 30.6 años (DS 24.611) y de ellos el 56.36% (n=62) son mujeres. Se calculó que:

La mitad de estos individuos (n=55) tienen un valor de aTTG entre 2 y 8 U/mL, en estos se debe confirmar su valor con anticuerpos antiendomiso IgA y, en todos ellos realizar un seguimiento serológico con o sin biopsia según criterios clínicos.

- El 50 % (n=55) presentaron un valor aTTG superior a 8U/mL. Estos individuos, una vez confirmado su enfermedad, comienzan un tratamiento mediante dieta sin gluten (DSG)

Incidencia con todos los individuos con aTTG  $\geq 2$  U/mL (110 casos nuevos/2457 individuos estudiados) = 0.045 (el 4,5% de los individuos estudiados tienen un valor aTTG  $\geq 2$ )

Incidencia con los individuos aTTG >8 U/mL (55 casos nuevos/2457 individuos estudiados) = 0.022 (el 2.2% de los individuos estudiados se diagnostican como EC)

Tabla 1. Distribución por edad y sexo

	ACY (n=110)		
	Seguimiento* (n=55, 50%)	EC** (n=55, 50%)	Total
Sexo (n, %)			
Hombres	26, 47.3	29, 52.7	48, 43.64
Mujeres	22, 40.0	33, 60.0	62, 56.36
Edad (años n, %)			

$\leq 14$	16, 29.1	30, 54.5	46, 41.82
15-65	32, 52.8	21, 38.2	53, 84.18
>65	7, 12.7	4, 7.3	11, 10.0

\*Valores de aTTG2-8U/mL; \*\*Valores de aTTG >8U/mL

## Conclusiones

Debido a su alta incidencia, la EC es problema sanitario de primer orden que afecta a individuos de cualquier edad. Es necesario realizar un seguimiento en pacientes con valores > 2 UI/mL de aTTG. Hemos observado una incidencia muy elevada en adultos (53%), incluso ancianos (11%) por lo que es necesario reconocer a estos individuos que con frecuencia no presentan los síntomas típicos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 086

### ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS MÉTODOS DE ELISA Y QUIMIOLUMINISCENCIA PARA EL ANÁLISIS DE ENAS ESPECÍFICOS

Autor/a/s: Manuel Jesús Vázquez Rodríguez, Francisca Berral Baena, Jesús María Díaz Campos.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen Macarena. Localidad: Sevilla

Correo electrónico del primer firmante: damblu@yahoo.es

## Introducción:

El laboratorio de autoinmunidad juega un papel esencial en el diagnóstico, clasificación, pronóstico y seguimiento de enfermedades autoinmunes mediante la detección de autoanticuerpos séricos

El término ENA se refiere a "antígenos nucleares extraíbles" e incluye: anti-Ro/SSA, anti-La/SSB, anti-Sm, anti-RNP/U1RNP, anti-Scl-70/topoisomerasa I, anti-Jo-1/histidil tRNA sintetasa. En las enfermedades autoinmunes tales como síndrome de Sjögren, lupus eritematoso, sistémico (LES), esclerodermia, dermatomiositis y polimiositis entre otras, dichos antígenos han sido identificados como diana de autoanticuerpos. Su análisis se hace preferentemente mediante inmunoensayo ligado a enzima (ELISA) para cada uno de los diferentes antígenos. Este método es de gran sensibilidad y puede detectar concentraciones pequeñas de anticuerpos. En los últimos años sin embargo, el desarrollo de nuevas técnicas de quimioluminiscencia está cambiando el modo de trabajo del laboratorio de autoinmunidad.

## Objetivos:

Analizar el grado de acuerdo entre el método de quimioluminiscencia Zenit RA de Menarini Diagnostics (Florenia, Italia) y el método habitual de ELISA del laboratorio de Inova Diagnostics (San Diego, USA) para el análisis de anti-ENA específicos, anti-Ro/SSA, anti-La/SSB, anti-Sm, anti-U1RNP, anti-Scl70 y anti Jo-1.

## Métodos:

Se estudiaron muestras de 85 pacientes provenientes del servicio de reumatología de un hospital de tercer nivel. La automatización de las técnicas se realizó en paralelo en los autoanalizadores Zenit-SP+ (ELISA de Innova Diagnostics) y Zenit-RA (inmunoensayo por quimioluminiscencia de Menarini Diagnostics). Obtenidos los resultados de los diferentes anti-ENA, se clasificaron a los pacientes como positivos o negativos según los puntos de corte recomendados por el fabricante y se determinó el grado de acuerdo entre ambas técnicas utilizando el programa estadístico SPSSv19.

## Resultados:

Estudiando los resultados conjuntamente, se observa un grado de acuerdo bueno con un índice k de 0.685. igualmente ocurre con el acuerdo para los anticuerpos anti-Sm, anti-Scl70 y anti-SSA. Valores de acuerdo moderados para anti-RNP y anti-Jo1.

## Conclusión:

Los dos métodos estudiados muestran buena concordancia para el análisis de anti-ENA específicos. Dadas las ventajas de la técnica CLIA frente a ELISA (curva maestra para cada lote de calibradores y controles, linealidad y acceso continuo de muestras) podría ser una opción válida para el análisis de anti-ENA específicos en el laboratorio clínico.

## ANTICUERPOS ANTI-IGA DE ISOTIPO IGG: VALORACION DE UN METODO AUTOMATIZADO

*Autor/a/s: Begoña Varga Cubillo, María del Carmen Pascual Campo, María del Carmen Fernández-Carrión Pérez, Carmen Bernal de la Rosa, Antonio Ferreira Cerdán.*

*Centro de trabajo: Hospital La Paz-Unidad de Inmunología. Localidad: Madrid*

*Correo electrónico del primer firmante: jabealser@ya.com*

### Introducción:

Los anticuerpos anti-IgA de clase IgG están presentes entre un 10%-30% de pacientes con Deficiencia de IgA y en pacientes con Síndrome variable común de Inmunodeficiencia y pueden inducir reacciones anafilactoides.

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 había 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 utilizaba 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 han comercializado varios kits de anticuerpos anti-IgA de isotipo IgG, uno de ellos de la casa BioVendor fue valorado previamente por nosotros y resultando ser útil para este propósito.

El objetivo del presente trabajo es valorar si el producto Elia Anti-IgA de Thermo Fisher Scientific que cuantifica anticuerpos anti-IgA de isotipo IgG de forma automática, usando el aparato Phadia 250 es comparable a nuestro ensayo manual, lo que permitiría que esta 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. en aquellos Centros que tuvieran esta tecnología

### Materiales y Métodos:

Se ha realizado el estudio mediante nuestra técnica de ELISA (Clin Immunol Immunopathol 1988;47: 199-207) y mediante EliA™ Anti-IgA de Thermo Fisher Scientific utilizando el aparato Phadia 250.

Se evaluaron 32 sueros negativos para anticuerpos anti-IgA de clase IgG, algunos de ellos positivos para anticuerpos anti-IgA de clase IgM y 34 sueros positivos para anticuerpos anti-IgA de clase IgG con diferentes títulos entre un rango de positividad de 1/160 a 1/10240 según nuestro ELISA.

La positividad de los sueros fue corroborada mediante reacciones de inhibición.

### Resultados:

Todos los sueros negativos por nuestro ensayo fueron también negativos mediante EliA™ Anti-IgA.

Todos los sueros positivos por nuestro ensayo fueron positivos también mediante EliA™ Anti-IgA, existiendo una buena correlación entre nuestro título y las unidades determinadas mediante EliA™ Anti-IgA.

No se apreciaron falsos positivos mediante EliA™ Anti-IgA en los sueros positivos para IgM anti-IgA.

Conclusiones: Se ha evaluado uno de los métodos comerciales en el mercado para la cuantificación de anticuerpos anti-IgA de clase IgG que permite la automatización del proceso mediante el aparato Phadia 250, los resultados demuestran que, aunque no diferencia si las positividades van dirigidas contra la IgA1 o la IgA2, es útil para la cuantificación de anticuerpos anti-IgA de clase IgG globalmente.

Además, el primer resultado de la prueba aparece a las 2 horas de comenzada la técnica saliendo los sucesivos con una periodicidad de 1 minuto por muestra, este tiempo es mucho menor que el de los ensayos manuales y siendo la automatización del proceso una ventaja frente a otros enzimo-inmunoensayos comerciales.

Una ventaja adicional frente al ensayo manual es el menor precio de la determinación al ser una prueba cuantitativa.

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 transfusiones sanguíneas como de todos aquellos que hayan tenido reacciones anafilactoides tras administración de hemoderivados.

## DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

*Autor/a/s: Ana Gracia Martínez, Ester Carabantes Gonzalez, Isabel Perez Fernandez, Marco Antonio Orbezo Cabani, Silvia Torralba Bernal*

*Centro de trabajo: Hospital de la Vall d'Hebron. Localidad: Barcelona*

*Correo electrónico del primer firmante: annagracia@msn.com*

### Introducción:

Los Anticuerpos antinucleares (ANA) son autoanticuerpos que tienen como blanco el contenido del núcleo celular. La concentración de anticuerpos antinucleares está significativamente aumentada en aquellos pacientes con enfermedades autoinmunes. El test de ANA, mide el patrón y la cantidad de autoanticuerpos, resultando positivo en el caso de que los títulos se encuentren aumentados en comparación con la población general.

### Objetivo:

El objetivo de este trabajo es estudiar cuales son las diferentes técnicas para analizar este tipo de anticuerpo y una vez obtenido el resultado cuáles son sus aplicaciones

### Método:

Dentro del ambiente clínico, la medición de los ANA a nivel sanguíneo se realiza por diferentes formas. En general, existen dos métodos:

La inmunofluorescencia indirecta: resulta más sensible, permite determinar patrones de tinción asociados a diferentes enfermedades, pero es de mayor costo y requiere personal altamente capacitado para interpretar las imágenes obtenidas.

Y la ELISA: menos sensible, no resulta posible determinar en un solo ensayo diferentes perfiles, pero ha comenzado a ganar popularidad debido a su bajo costo y facilidad de implementación.

Nos centraremos en el uso de la técnica de inmunofluorescencia indirecta en este trabajo.

El sistema de análisis de ANA por inmunofluorescencia consiste en incubar las muestras con un sustrato antigénico que permite la unión específica de los autoanticuerpos a los núcleos de las células. Si hay ANA, se forma un complejo antígeno-anticuerpo estable. Tras el lavado para retirar los anticuerpos unidos de forma inespecífica, se incuba el sustrato con anticuerpos antihumanos conjugados con fluoresceína. Si los resultados son positivos, se forma un complejo estable con tres partes: el anticuerpo fluorescente unido al anticuerpo antinuclear humano, unido a su vez al antígeno nuclear. Este complejo se puede visualizar con la ayuda de un microscopio de fluorescencia. En las muestras positivas, los núcleos celulares mostrarán una fluorescencia de color verde manzana, con un patrón de tinción característico de la particular distribución del antígeno nuclear en las células. Si no hay ANA en las muestras, el núcleo no presentará un patrón de fluorescencia nuclear claramente discernible.



## Resultados:

El título de referencia para los ANA es de 1:40 para adultos y 1:20 para niños. Títulos mayores suelen ser indicativos de una enfermedad autoinmune. Los ANAs son indicativos de lupus eritematoso sistémico (en el cual se encuentran presentes en el 80-90% de los pacientes clínicamente diagnosticados); aunque también pueden aparecer en otras patologías autoinmunes tales como el síndrome de Sjögren (60% de los casos), espondilitis anquilosante, artritis reumatoide, hepatitis autoinmune, esclerodermia, polimiositis y dermatomiositis (30%) y también en otras condiciones no reumatoideas asociadas a daños en los tejidos, tales como la enfermedad de Addison, Púrpura trombocitopénica idiopática, anemia hemolítica autoinmune, entre otras.

## Conclusiones:

Como ya hemos mencionado las técnicas de inmunofluorescencia son técnicas muy sensibles en la detección de los diferentes tipos de enfermedades autoinmunes en las que están relacionadas. Los principales inconvenientes son su elevado coste y que se requiere de personal especializado para su lectura. También encontramos otra serie de inconvenientes en la realización de estas técnicas.

En la mayoría de las técnicas de fluorescencia, un problema muy significativo con la inmunofluorescencia es el fotoblanqueo. Es decir la pérdida de la actividad fluorescente causada por la exposición a la luz. Esta pérdida de actividad puede ser controlada reduciendo la intensidad o el tiempo de exposición a la luz, incrementando la concentración de fluoróforo, o empleando fluoróforos más robustos que sean menos propensos al fotoblanqueo. Las técnicas de tinción por inmunofluorescencia para la marcación de estructuras subcelulares se encuentra limitada a su uso en células fijadas ya que los anticuerpos no son capaces de atravesar las membranas íntegras de las células vivas. Sin embargo si es posible detectar proteínas o moléculas en suspensión en el sobrenadante, en la periferia (membrana) y proximidades de una célula viva, esto posibilita marcar células vivas siempre que no se requiera ver su estructura interna.

En el caso de células fijadas, dependiendo de la técnica de fijado utilizada, puede ocurrir que las proteínas de interés queden unidas por enlaces cruzados a otras proteínas, lo que puede causar tanto falsos positivos, como falsos negativos debidos a unión inespecífica. Una técnica alternativa es aprovechar la síntesis de proteínas recombinantes que contengan dominios fluorescentes, por ejemplo dominios de la proteína verde fluorescente (GFP). Estas proteínas recombinantes funcionan como una marca interna que permite seguir todo el proceso de síntesis y localización de la proteína original en una célula viva. Esta última opción, aunque puede parecer una alternativa muy elegante a la inmunofluorescencia, requiere que las células sean transfectadas con el gen de la GFP, y esto además de las grandes complicaciones técnicas, requiere que las células (u organismos) recombinantes obtenidos sean mantenidos en condiciones muy estrictas de seguridad biológica.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 193**

## CORRELACIÓN ENTRE ENSAYOS PARA MONITORIZAR TERAPIAS DE INFILIXIMAB ADALIMUMAB Y ENBREL EN ARTRITIS REUMATOIDE Y ENFERMEDADES INFLAMATORIAS CRÓNICAS

*Autor/a/s: M<sup>o</sup>DEL ROSARIO MORAL HERNANDO, FLORENCIA ARRIBAS ARRIBAS, CRISTINA DIEGO VALVERDE, SUSANA RAMIRO LATIENDA, M<sup>a</sup> TERESA LOPEZ CASLA, DORA PASCUAL-SALCEDO*

*Centro de trabajo: HOSPITAL LA PAZ. Localidad: MADRID*

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

## Introducción:

Se ha demostrado que los niveles de fármacos anti-TNF están fuertemente asociados con la respuesta clínica en artritis reumatoide (AR) y enfermedades inflamatorias crónicas (EII). La monitorización de fármacos biológicos en la práctica clínica puede ayudar significativamente a optimizar el tratamiento. En pacientes con Artritis Reumatoide (AR) y enfermedades inflamatorias crónicas intestinal (EII) se realiza ajustando la dosis de fármaco según la actividad clínica. Para determinar los valores de fármaco se han desarrollado diferentes ensayos y tecnologías. Es un requisito indispensable que los métodos usados sean validados, estandarizados y que guarden un equilibrio adecuado entre prestaciones clínicas y aplicabilidad desde un punto de vista práctico para poder ser adoptados y utilizados de manera consistente entre centros. A partir del 2010, en el Servicio de Reumatología de nuestro Hospital se usan los valores de niveles séricos de fármaco en las terapias anti-TNF como herramienta complementaria a las habituales para mejorar nuestras actitudes terapéuticas e intentar ser más costo-eficientes.

## Objetivo:

Evaluar la correlación entre tres ensayos utilizados actualmente en clínica para monitorizar niveles de infliximab (IFX) adalimumab (ADA) enbrel (ENB) en Artritis Reumatoide y Enfermedades Inflamatorias Crónicas Intestinales.

## Método y materiales:

Se han llevado a cabo tres estudios retrospectivos con el departamento de reumatología del Hospital La Paz y de Progenika. El análisis se ha realizado en 80 pacientes con AR y EII tratados con IFX, ADA, ENB respectivamente. Todos los pacientes cumplían criterios ACR 1987 para (AR) y mostraban enfermedad activa. Dos de los ensayos que se emplearon para medir los niveles séricos fueron en La Paz por el método ELISA: Se carga la placa con un monoclonal anti-TNF/7 y se incuba toda la noche a T<sup>a</sup> ambiente. Al día siguiente se lava con PBS+Tween 0,02% y se le añade TNF recombinante se deja incubar 1h. El siguiente paso se añade las muestras de suero y la curva durante 1h, posteriormente añadimos el anti-fármaco biotinado (Sanquin y Progenika) y se incuba 1h. Se emplea TMB como sustrato y se para con SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>. El otro ensayo que se midió fue con los Kits ELISA Promonitor (Progenika Biopharma) que usa igual arquitectura y anticuerpos monoclonales específicamente dirigidos contra cada fármaco.

## Resultados:

La correlación entre los tres ensayos es muy buena. Los coeficientes de correlación Pearson entre los ELISA de la Paz con los antisueros de Sanquin y Progenika fueron de "r"0.807 para ENB, "r"0.993 para IFX, Y "r"0.949 para ADA, altamente significativo.

## Conclusión:

Los ensayos utilizados se correlacionan y muestran un buen acuerdo. Las asociaciones entre cada analito y la respuesta clínica son iguales independientemente del ensayo utilizado. Estos tres ensayos son una herramienta adecuada para la monitorización de fármacos biológicos en la práctica clínica.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 211**

## SELECCION DE POTENCIALES AGENTES TERAPEUTICOS: ANTICUERPOS INTERNALIZABLES Y ESPECIFICOS DE CELULAS TUMORALES

*Autor/a/s: Ruiz Rodríguez Raquel, Pol Aracil Susana, López Fernandez Alba, Purcet Gregori Sergi, Luque Garrafé Teresa, Lobato Caballero Natividad*

*Centro de trabajo: ORYZON. Localidad: CORNELLÀ DE LLOBREGAT*

*Correo electrónico del primer firmante: ebola\_000@hotmail.com*

## Introducción:

Uno de los mayores retos en el tratamiento de tumores es mejorar la especificidad de los medicamentos por las células cancerígenas para no dañar a las células sanas.

Los anticuerpos monoclonales internalizables conjugados o fusionados a drogas muy potentes son una de las estrategias más prometedoras en terapia de cáncer porque: 1) reducen mucho la toxicidad y, por lo tanto, los efectos secundarios en el paciente, 2) permiten que las concentraciones del fármaco que se consiguen localizar en el tumor sean mayores y, 3) reducen la probabilidad de desarrollar resistencia a la droga.

Phage display es una tecnología muy potente con la que se puede seleccionar anticuerpos que se unen específicamente a una diana partiendo de librerías de millones de fagos (virus que infectan bacterias) que expresan fragmentos de anticuerpos fusionados a sus proteínas de la cápside. Esta técnica ha sido muy utilizada para aislar fragmentos de anticuerpos específicos de tumor que posteriormente se han usado en terapias de cáncer y otras enfermedades.

## Objetivo:

El objetivo de este trabajo ha sido poner a punto un método rápido y simple que permita la selección y caracterización de fragmentos de anticuerpos fusionados a fagos y que reconocen específicamente proteínas de membrana de células cancerígenas que internalizan muy eficientemente.



## Material y métodos:

La línea celular utilizada como diana para aislar nuestros anticuerpos fue la A375, una línea de melanoma humano.

La metodología de aislamiento de fragmentos de anticuerpos a partir de una librería de fagos con una diversidad de aproximadamente  $1E10$  fue Phage display en condiciones favorecedoras para la internalización de proteínas de membrana de células A375.

La selección de anticuerpos que unen específicamente a células A375 se realizó por ELISA.

La caracterización de los anticuerpos en cuanto a afinidad y capacidad de internalización, se llevó a cabo mediante ensayos de citometría y de viabilidad celular con Alamar Blue, respectivamente.

Tras una primera selección de los mejores candidatos, se escogieron los que presentan más diversidad basándose en su secuencia de ADN.

Las cadenas pesadas y ligeras variables se reclonaron para obtener el ADN de una IgG.

Se realizaron transfecciones transitorias en la línea celular HEK293T con el ADN reclonado anteriormente para producir IgGs completas y con estas revalidar los resultados previamente obtenidos.

## Resultados:

Tras tres rondas de biopanning, o puesta en contacto de la librería de fagos con células A375, se consiguió un enriquecimiento en fragmentos de anticuerpos fusionados a fagos que se unen a esta línea celular. Por ELISA se seleccionaron 110 fagos que reconocen específicamente las células diana A375 y no otros tipos celulares. Estos fragmentos de anticuerpo se testaron en experimentales de viabilidad celular con Alamar Blue y el 80% mostraron reducción de la supervivencia de las células entre un 30-70% aproximadamente. Se seleccionaron los 7 candidatos más internalizables con secuencia de aminoácidos distinta. La capacidad de internalización y la afinidad se revalidaron cuando el anticuerpo se expresó en formato IgG. Algunos de los anticuerpos mostraron afinidades en el rango pM y capacidad de matar células tumorales in vitro con EC50 en el orden nM-pM.

## Conclusión:

La metodología propuesta en este trabajo funciona muy satisfactoriamente. El tiempo de selección y caracterización de esos anticuerpos se redujo significativamente gracias a la optimización de los ensayos en formato fago. Los anticuerpos aquí seleccionados son excelentes candidatos para conjugar a drogas anticancerígenas y ser testado en ratones para conocer su potencial terapéutico por su alta especificidad para células tumorales de cáncer de melanoma.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 235**

### AC ANTI ATPASA H+/K+ GÁSTRICA MARCADOR SEROLOGICO EN EL DIAGNOSTICO DE PACIENTES CON GASTRITIS AUTOINMUNE ASOCIADA A OTRA PATOLOGIA AUTOINMUNE

*Autor/a/s: M<sup>a</sup> Jesús Marcos Gutierrez, M<sup>a</sup> Asunción Julián Viñals, Francisca Yanez Pereira, Carmen Salcedo Moreno, Elena Marco Castro, María Bravo García-Morato, Rita Álvarez Doorno*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario La Paz. Localidad: Madrid*

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

## Introducción:

La gastritis autoinmune (GA) es una enfermedad organoespecífica caracterizada por la presencia en suero de anticuerpos anti células parietales gástricas (Ac Anti CP) siendo el antígeno específico la enzima ATPasa H+/K+ gástrica. Se detectan por inmunofluorescencia indirecta (IFI) encontrándose en el 60-85% de pacientes con GA y en el 90% de pacientes con anemia perniciosa.

Los Ac anti CP se encuentran frecuentemente en otras enfermedades autoinmunes organoespecíficas y la presencia de otros autoanticuerpos específicos puede interferir su detección.

Una limitación importante de la técnica de IFI es la subjetividad, se necesita personal experto en la lectura y aún así la coexistencia de otros autoanticuerpos impide su interpretación. Este es el caso de las hepatopatías autoinmunes mediadas por anticuerpos anti mitocondria, que da lugar en IFI a patrones de tinción citoplásmica sobre las células parietales.

El objetivo del presente trabajo es valorar una técnica dot-blot semiautomática específica para la detección de Ac anti ATPasa H+/K+ gástrica y su utilidad como técnica diagnóstica ante la sospecha de gastritis autoinmune en pacientes con otras patologías autoinmunes.

## Pacientes y Métodos:

Se procesaron sueros de 108 pacientes, 81 mujeres, 27 hombres, con una edad media de (47.88 +/- 19.77) años, los pacientes fueron clasificados en base a criterios diagnósticos en: controles sanos, gastritis autoinmune con o sin otras patologías autoinmunes, hepatopatía autoinmune, otras enfermedades autoinmunes con sintomatología de gastritis autoinmune, otras enfermedades no autoinmunes.

Las técnicas que se emplearon fueron: (1) Inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre portas de triple tejido de hígado/riñón/estómago de rata (Euroimmun). Se incubó diluciones seriadas de suero revelándose con un anti IgG humana marcada con un fluorocromo, realizándose posteriormente la lectura e interpretación de los portas en un microscopio de fluorescencia por personal técnico cualificado. Se establece el punto de corte 1/160; (2) Inmunoblot comercial semiautomatizado, Atrophic Gastritis Dot (Alphadia), que cuenta con el antígeno ATPasa H+/K+ purificado fijado a una membrana. Se incubó el suero y se revela con un monoclonal anti-IgG humana ligado a fosfatasa alcalina, que da lugar a un precipitado analizado automáticamente por un escáner.

## Resultados:

La IFI y el dot-blot mostraron una buena concordancia (84%). La técnica con mayor sensibilidad resultó ser la IFI (95,5%) frente al dot-blot (74%), mientras que la de mayor especificidad fue el dot-blot (96%) frente a la IFI (76%).

Los Ac anti CP presentan por IFI un patrón característico de fluorescencia citoplásmica granular fino exclusivo de las células parietales, en el 40% de los sueros ensayados por IFI hubo dificultad en la interpretación del patrón debido a la coexistencia con otros autoanticuerpos. Se detectaron 28 pacientes con Ac anti mitocondriales por IFI siendo imposible en estos casos detectar los Ac anti CP, el 32% fueron Ac anti ATPasa H+/K+ positivos. En 16 pacientes la interpretación se vio dificultada por tinciones debidas a la presencia de otros autoanticuerpos, el 37% fueron Ac anti ATPasa H+/K+ positivos.

## Conclusiones:

En los casos de sospecha de gastritis se recomienda utilizar como técnica de despistaje la IFI, para la detección de Ac anti CP. En los casos positivos confirmar los Ac anti ATPasa H+/K+ gástrica por dot-blot, técnica de segunda elección.

La detección de Ac anti ATPasa H+/K+ gástrica por dot-blot es una técnica sencilla de realizar, no es subjetiva y tienen una gran especificidad. Se recomienda realizar como técnica de primera elección solo en los casos de sospecha diagnóstica de gastritis autoinmune asociadas a hepatopatía autoinmune, otras patologías autoinmunes organoespecíficas y/o neoplasias.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 237**

### RECONOCIMIENTO DE ALÉRGICOS EN DOS PESCADOS DE CONSUMO HABITUAL

*Autor/a/s: M Jesús Pagola del Santo; Teresa Plaza García; Sofía Sanchez Pastor; Nieves Prior Gómez; Yosaira Rijo Calderón, Santiago Quirce Gancedo, Teresa Caballero Molina.*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario La Paz, Laboratorio Inmunoalergia. Localidad: Madrid*

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

## Introducción:

El gallo (*Lepidorhombus boschii*) y la rosada (*Genypterus blacodes*) son dos pescados blancos de diferente familia, que forman parte de nuestra gastronomía y pueden ser causa de reacciones alérgicas.

Mientras que el gallo es conocido y consumido tradicionalmente en España, la rosada es un pez de las aguas del hemisferio sur, que se ha introducido en nuestra cocina en los últimos años. Existen casos publicados de alergia a gallo, pero no se conocen casos de alergia a rosada.

## Caso clínico

Mujer de 34 años, diagnosticada de alergia a gallo con varios años de evolución. Tolerancia a otros pescados. Posteriormente tiene un cuadro de anafilaxia con rosada.

## Objetivos:

Demostrar la presencia de IgE frente a rosada como causante de la reacción alérgica frente a rosada en esta paciente.

Estudiar los alérgenos de la rosada implicados en la reacción.

Estudiar si los alérgenos responsables de la alergia a la rosada y el gallo en esta paciente presentan alergenicidad cruzada.

## Material y métodos:

- Elaboración de extractos de gallo y rosada, crudo y cocido.
- Realización de pruebas cutáneas (prick-test) con los extractos de gallo y rosada.
- Electroforesis en gel de poliacrilamida SDS-PAGE de extracto de gallo y rosada.
- Inmunoelectrotransferencia IgE de SDS-PAGE de extracto de gallo y rosada con suero de la paciente y con una mezcla de sueros polisensibilizados a diferentes familias de pescados.
- Inhibición de inmunoelectrotransferencia IgE de SDS-PAGE de extracto de gallo y rosada previa incubación de los dos sueros con gallo y con rosada.

## Resultados:

El prick test fue positivo para extractos crudos y cocidos de gallo y rosada a 10 mg/mL.

En la inmunoelectrotransferencia con el suero de la paciente se observan bandas fijadoras de IgE con PM menor de 14 kDa tanto en el gallo, como en la rosada crudos y cocidos, que se podrían corresponder a las parvalbúminas. Este suero también reconoce bandas fijadoras de IgE con peso molecular alrededor de 20 kD en el gallo crudo y en el cocido y de peso molecular 20 kD y 30 kD en la rosada cruda y cocida.

La inhibición de la inmunoelectrotransferencia IgE frente a rosada y gallo previa incubación del suero de la paciente con gallo produjo una inhibición completa de las bandas de <14 y 20 kD en gallo crudo y cocido, y parcial de la rosada.

## Discusión y Conclusiones:

Se ha demostrado la sensibilización IgE frente a rosada como posible causante de la reacción alérgica a rosada en esta paciente.

Los datos observados indican que puede haber reactividad cruzada parcial entre gallo y rosada.

## Material y métodos:

Estudio retrospectivo del cribado de ANAs realizado de Enero a Diciembre del año 2012. El ensayo utilizado es ELIA ANA CTD screen (Thermo Fisher Scientific®). El autoanalizador utilizado Phadia 250 (Thermo Fisher Scientific®) utiliza una técnica de fluoroinmunoanálisis. Los antígenos que detecta la prueba de cribado de ANAs son: dsDNA; Sm; Rib-P; PCNA; U1-smRNP; SS-A/Ro; SS-B/La; Scl-70; CENP; Fibrilarina; ARN polimerasa III; Jo-1; Mi-2; PM-Scl.

Los resultados positivos (>1 de ratio) o indeterminados (0.7-1.0 de ratio) se remiten a nuestro Laboratorio de referencia donde realizan una inmunofluorescencia (IFI) de DNA cadena doble sobre sustrato de Crithidia lucilae y otra IFI con sustrato HEP-2 (tejido de hígado o riñón de rata). Se valora la titulación obtenida y se hace un cribado de ENA mediante contraimmunofluorescencia.

Si el cribado es positivo y la titulación de IFI mayor o igual a 1/160, se sigue con el estudio para la detección del resto de antígenos.

## Resultados:

El número de muestras realizadas durante el año 2012 ha sido de 1098, de las cuales se han obtenido 142 muestras positivas e indeterminadas que se corresponde al 13% del total de las muestras a las que se las muestras ensayadas.

De las 142 muestras remitidas a nuestro Laboratorio de referencia, 47(33%) se confirman como positivas.

## Conclusiones:

Los resultados obtenidos en este estudio indican una incidencia de un 5% de ANAs positivos, siendo los anticuerpos más frecuentes anti- SSA/Ro anti-SSA/La. Consideramos esta técnica muy sensible pero poco específica.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 243**

## ESTUDIO DE INCIDENCIA DE ANAS EN LA POBLACIÓN DE NUESTRO ÁREA SANITARIA

*Autor/a/s: Guerra Montaña Amparo; Velasco Montero Olga; Cabeza Arroyo Victoria.*

*Centro de trabajo: Hospital La Merced.. Localidad: Osuna.*

*Correo electrónico del primer firmante: aguerram@hotmail.es*

## Introducción:

Los anticuerpos antinucleares (ANAs) comprenden una variedad de auto-anticuerpos contra distintos constituyentes del núcleo de la célula como son DNA, RNA y otras proteínas nucleares, incluso auto-anticuerpos dirigidos contra antígenos citoplasmáticos.

La concentración de estos anticuerpos (ANAs) está aumentada en las enfermedades autoinmunes siendo indicativo de un grupo heterogéneo conocido como conectivopatías: Lupus eritematoso sistémico, Síndrome de Sjögren, Esclerodermia, Esclerosis sistémica limitada, Polimiositis, Dermatomiositis, Enfermedad mixta del tejido conectivo. Es importante identificar los distintos tipos de ANAs que pueden aparecer.

## Objetivo:

Determinar las incidencias de ANAs en la población de nuestra área sanitaria de Osuna.

# MICROBIOLOGÍA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 002

## BLEFARITIS POR DEMODEX FOLLICULORUM

Autor/a/s: García Vela, Jose Herminio y Franco Alvarez de Luna, Francisco; Reposo Calero, Reyes

Centro de trabajo: Area de Gestion Sanitaria Norte de Huelva. Localidad: Minas de Riotinto

Correo electrónico del primer firmante: jhgvela@yahoo.es

### Resumen:

Demodex folliculorum, es un parásito frecuente y extendido que normalmente se encuentra en la unidad pilosebácea del folículo piloso. Es el ectoparásito más común en humanos. Se reporta un caso de un paciente con blefaritis, de un mes de evolución sin respuesta al tratamiento. Se realizó toma de muestra de pestañas, donde se observaron mediante microscopía, formas compatibles con Demodex folliculorum. Se instauró tratamiento con solución de permetrina para aplicar en cejas y párpados y crema de permetrina al 5 %, tópica, lográndose remisión completa de los síntomas al mes de tratamiento. El propósito de la descripción del caso clínico es: resaltar la sencillez del método diagnóstico de la blefaritis por Demodex folliculorum, conocer sus signos y síntomas, así como las posibilidades terapéuticas.

### Introducción:

Demodex folliculorum habita los folículos de cabellos a nivel de las glándulas sebáceas o de los conductos pilosebáceos. Fue descubierto por Henle y Berguer en 1841 y descrito en detalle por Simon en 1842. La infestación en el hombre por ácaros del género Demodex puede ser asintomática, o bien producir un amplio espectro de manifestaciones clínicas, existiendo una relación directa entre el grado de parasitación y la intensidad de los síntomas. La parasitación por Demodex folliculorum, además de la blefaritis, se ha asociado a cuadros cutáneos de rosácea y dermatitis seborreica, así como a erupciones pápulo-nodulares pruriginosas en pacientes con SIDA, entre otras.

### Caso Clínico:

Paciente de 59 años de edad que acude a la Consulta de Oftalmología de nuestro Centro Hospitalario con conjuntivitis bilateral, blefaritis de más de un mes de evolución y resistencia a los tratamientos habituales. La persistencia de los síntomas clínicos, la ausencia de mejoría al tratamiento y la presencia de restos en la base de las pestañas, hizo sospechar de la parasitosis por Demodex spp.

Se realizó toma de muestra de pestañas de ambos ojos que fueron enviadas al Laboratorio de Microbiología, además de la toma de muestra de exudado conjuntival para descartar sobreinfección bacteriana. Se tomaron de 8 a 10 pestañas de ambos ojos, que fueron observadas mediante microscopía óptica de 10X y 40X. La visualización microscópica de las pestañas permitió confirmar la presencia de Demodex folliculorum (Imagen 1,2 y 3). Las principales características morfológicas que permitieron la identificación del ácaro fueron su forma elongada, sus 4 pares de patas cortas, a modo de muñones, y la estríación transversal del opistosoma.

Se indicó tratamiento encaminado a eliminar el parásito con tratamiento tópico basado en la limpieza de las lesiones (párpados y cejas) con solución de permetrina al 1-1.5% (FILVIT®) y aplicación de pomada a base de permetrina al 5 %. Pasadas dos semanas de tratamiento se realizó nuevo examen en la consulta de oftalmología, constatándose la mejoría clínica del paciente.

### Discusión:

La parasitosis presente en el paciente de nuestro caso clínico, así como la desaparición de las manifestaciones clínicas tras un tratamiento dirigido, indican el importante papel que juega Demodex folliculorum en patologías como la blefaritis crónica.

Demodex folliculorum, se caracteriza por presentar en su estructura, un exoesqueleto que provoca una reacción granulomatosa a cuerpo extraño, lo que a su vez, produce un bloqueo mecánico que puede explicar la aparición de la blefaritis. El acumulo de costras y restos en "bocamanga o puño de camisa" en la base de las pestañas, corresponde a sus excrementos, exudados del folículo y restos de la proliferación epitelial. Estudios anteriores demuestran que estos ectoparásitos

y sus productos estimulan mecanismos de hipersensibilidad con producción de anticuerpos y reacciones inmunes mediadas por células. Cuando los mecanismos de defensa del huésped se encuentran comprometidos como resultado de una enfermedad congénita o adquirida o por el uso de drogas como los esteroides, la infección se desarrolla con mayor facilidad.

Aunque el tratamiento instaurado provocó la desaparición de los síntomas y la parasitosis, queda aún por definir un tratamiento eficaz y conocer el verdadero papel que cumple Demodex folliculorum en las infecciones palpebrales.

Podemos concluir que:

- En aquellos pacientes que presenten blefaritis crónica, resistente a los tratamientos empíricos habituales, debe investigarse la presencia de Demodex folliculorum.
- La detección de Demodex folliculorum, mediante visualización microscópica de las pestañas del paciente, es un método fácil, y asequible a todos los laboratorios de diagnóstico clínico.
- El tratamiento combinado de loción con permetrina al 1-1.5% y crema con permetrina al 5% constituyó una eficaz opción terapéutica en nuestro caso.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 003

## PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS EN EL AGS NORTE DE HUELVA

Autor/a/s: GARCIA VELA, JOSE HERMINIO; MEDINA JIMENEZ, M<sup>a</sup> JOSE Y GONZALEZ FERNANDEZ, INMACULADA

Centro de trabajo: HOSPITAL GENERAL DE RIOTINTO. Localidad: MINAS DE RIOTINTO

Correo electrónico del primer firmante: jhgvela@yahoo.es

### Resumen:

Se calcula que un 33% de la población mundial está infectada por Mycobacterium tuberculosis, por lo que la Tuberculosis (TBC) es la infección de mayor prevalencia en el mundo. En España, entre 10 y 15 millones de personas están infectadas. Estas personas no están clínicamente enfermas ni pueden transmitir la TBC, pero albergan microorganismos viables y se enfrentan a un riesgo durante toda su vida de presentar una TBC clínica si su sistema inmunitario falla debido a enfermedad, tratamiento médico o envejecimiento. En el presente estudio ponemos de manifiesto la prevalencia de tuberculosis en el Área de Gestión Sanitaria Norte de Huelva durante los años 2009-2012.

### Material y métodos:

Se trata de un estudio retrospectivo desde enero de 2009 hasta diciembre de 2012, en el que se analizan las muestras de pacientes con sospecha de TBC, adquiridas en la comunidad. Se procesaron un total de 575 muestras entre esputos, broncoaspirados y orinas, de ambos sexos y todas las edades, con sospecha clínica de tuberculosis. La determinación de Mycobacterium tuberculosis se realizó con el procesamiento de las muestras (esputos, broncoaspirados y orinas) mediante la realización de tinciones de auramina (técnica fluorocrómica) y Ziehl-Neelsen. Todas las muestras positivas son enviadas al laboratorio de referencia donde se le realiza cultivo de Lowenstein y estudio de sensibilidad a Estreptomycin, Etambutol, Isoniazida, Pirazinamida y Rifampicina (fármacos 18 línea). Asimismo, estas muestras se remiten al laboratorio de Anatomía Patológica para la realización de citología de esputo para tinción de Papanicolaou ya las biopsias, recibidas, de estos pacientes, se le realiza tinción convencional de hematoxilina-eosina y tinción histoquímica de Ziehl-Neelsen. No se procesan todas las muestras debido a la poca calidad de las mismas, procesándose solo las muestras según criterio clínico. Todos los casos positivos son informados al departamento de epidemiología del Área Sanitaria el cual realiza declaración al órgano competente e inicia estudio de los contactos de los pacientes.

### Resultados:

En el periodo que abarca nuestro estudio, 2009-2012, se han procesado un total de 575 muestras, pertenecientes a 244 pacientes, de las cuales se aislaron un total de 79 muestras (13,74%) positivas a Mycobacterium tuberculosis, correspondientes a 31 pacientes (12, 70%). El número de muestras por año ha sido

homogéneo existiendo un ligero aumento en el año 2012, aunque este aumento no se corresponde con un aumento de casos positivos. Todas las cepas identificadas por el laboratorio de referencia fueron *Mycobacterium tuberculosis* complex presentando un patrón de sensibilidad similar, con el 100% de las cepas sensibles a los fármacos de 18 línea estudiados. Debido a esto, en nuestro estudio, no ha sido necesario enfrentar las cepas a fármacos de 28 líneas. El informe de las muestras enviadas al laboratorio de Anatomía Patológica no muestra hallazgos patológicos significativos a excepción de una muestra de biopsia de riñón donde se aíslan *Mycobacterium tuberculosis*.

#### Discusión:

- Podemos concluir que la herramienta fundamental para el diagnóstico de caso de tuberculosis es la bacteriología (baciloscopia y cultivo) por su alta especificidad, sensibilidad y valor predictivo.
- Es importante que la determinación de *Mycobacterium tuberculosis* sea rápida, con ello, la cadena de transmisión puede romperse si se aísla al enfermo con tuberculosis activa y se ha comenzando de inmediato la terapia antituberculosis efectiva.
- En nuestro estudio todos los pacientes fueron tratados con fármacos de primera línea no encontrándonos ninguna cepa resistente a estos ni se presentaron efectos secundarios con la terapia instaurada por lo que en ningún caso fue necesario utilizar fármacos de segunda línea.
- Debido a la relación existente entre tuberculosis y VIH, toda persona con diagnóstico de Tuberculosis previa información y aceptación se debería realizar la prueba de diagnóstico para VIH.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 007**

#### VALIDACION DEL PROCEDIMIENTO DE DIGESTION PARA ESTUDIO DE ANISAKIS

*Autor/a/s: SÁNCHEZ HERNÁNDEZ FCO JAVIER*

*Centro de trabajo: LABORATORIO SALUD PUBLICA. Localidad: SALAMANCA*

*Correo electrónico del primer firmante: (javisanher@yahoo.es)*

#### Introducción:

La familia Anisakidae, esta formada por nematodos cuyas larvas se encuentran de manera muy abundante en peces de consumo habitual, siendo capaces de provocar en el hombre importantes patologías tanto gastrointestinales como reacciones alérgicas, representando un problema de enorme interés sanitario.

#### Objetivo:

Realizar un estudio para confirmar la validez del método de digestión para el examen parasitológico de nematodos de la familia Anisakidae en pescados y productos de la pesca. Los resultados obtenidos para aceptar el método como valido deberán ser:

Sensibilidad  $\geq 95\%$ . Falsos positivos  $\leq 5\%$ . y el % Recuperación larvaria  $\geq 90\%$ .

#### Material y métodos:

Se pretende que las larvas que están en los pescados y productos de la pesca queden liberadas al efectuarse la digestión en un líquido compuesto por agua, pepsina y ácido clorhídrico a una temperatura entre 44 y 46°C y en agitación durante un tiempo variable. Las larvas no se digieren y quedan retenidas en el tamiz.

Para ello realizamos un estudio sobre diez matrices que son

- Pescado fresco: 1.- Pescadilla, 2.- Bacaladilla, 3.- Bacalao, 4.- Merluza, 5.- Sardinas, 6.- Panga.
- Conservas: 7.- Anchoas, 8.- chicharros.
- En salazón: 9.- Bacalao salado.
- Cefalópodo: 10.- Calamar.

La sistemática es la realización de 15 ensayos con cada matriz en tres niveles

Ensayos	Nivel	Pescado (g)	HCl (ml)	Pepsina (ml)	Agua ml
5	bajo	20	3,2	6	400
5	medio	60	9,6	18	1200
5	alto	100	16	30	2000

En cada ensayo inicialmente contaminamos las muestras con larva obtenidas de otros ensayos, contamos el número de larvas con el que contaminamos, realizamos la digestión y contamos el número de larvas obtenidas.

#### Resultados:

Tras la realización de las 150 digestiones, (15 por cada una de las 10 matrices), nuestros resultados fueron:

- Sensibilidad : 100% (Proporción de muestras que contienen el parásito investigado y responde positivamente al método).
- Falsos positivos : 0%
- % Recuperación larvaria: 99,43%.

#### Conclusiones:

Según los resultados obtenidos, consideramos el método VALIDO para el examen parasitológico de nematodos de la

Familia Anisakidae en pescados y productos de la pesca

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 010**

#### CANDIDA ALBICANS, CAUSA MAS FRECUENTE DE VAGINITIS EN MUJERES ADULTAS

*Autor/a/s: BALBIN ARANEGA, MARIA CATALINA; MARTINEZ BALBIN, ELENA; MARTINEZ PALACIOS, GREGORIO; RAMOS SANCHEZ, BELEN; CASTILLO LOPEZ, MARIA; FIGUEROBA GARCIA, ROSARIO; AMORES ANTEQUERA, CARMEN; CANTUDO MUÑOZ, PURIFICACION*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO SAN AGUSTIN. Localidad: LINARES*

*Correo electrónico del primer firmante: balbinmaria@live.com*

#### Introducción:

De todos los microorganismos implicados en infecciones vaginales, *Cándida* spp. es la más común. Un porcentaje muy elevado de mujeres experimentan al menos un episodio de infección sintomática por levaduras. *Cándida* spp. produce un flujo de color blancuzco amarillento, espeso y de mal olor, el cual puede venir acompañado de picazón, ardor e hinchazón. En casos graves puede causar dolor al caminar, orinar o en las relaciones sexuales.

#### Objetivos:

El objetivo de este estudio ha sido evaluar la incidencia de *Cándida* spp. y otros patógenos en infecciones vaginales en nuestra Área Sanitaria (Jaén-Norte) analizando todos los exudados vaginales recibidos en nuestro laboratorio de microbiología, de Enero a Diciembre de 2012.

#### Material y métodos:

Muestras procedentes de exudados vaginales tomadas en escobillón con medio de transporte (Amies) recibidas en nuestro laboratorio.

Estas muestras se cultivaron en Agar Sangre, Agar Chocolate, Agar C.N.A. (Biomerieux) incubados a 36°C y en Agar Sabouraud dextrosa-cloranfenicol (a 30°C) durante 48 horas. A todas las muestras se le realizó un examen en fresco. La identificación de levaduras se realizó a través del test de filamentación y galerías de identificación API (Biomerieux), para otros microorganismos se usaron paneles de identificación y antibiograma MicroScan (Siemens)

#### Resultados:

Se procesaron 291 exudados vaginales de los cuales 37 procedían de niñas menores de 15 años. Se informaron como positivos en adultas 110 (38%), en exudados de niñas fueron positivos 10 (27%) total 120 positivos. Se aislaron: *Cándida albicans* 55 (45.8%), *Cándida* spp 27 (22.5%), *Gardnerella vaginalis* 15 (12.5%), *Streptococcus pyogenes* 7 (5.8%), *Haemophilus* spp. 2 (1.6%), *Trichomonas* 1 (0.8%), otros 13 (11%). De los 10 aislamientos positivos aislados en exudados vaginales de niñas 7 (70%) fueron *S.pyogenes*, 1 (10%) *Haemophilus* spp., 1 (10%) *Cándida* spp., y 1 (10%) *S.anginosus*.

#### Conclusiones:

- 1-Se aisló en un 68% de las muestras *Cándida* spp.
- 2-*Cándida albicans* fue la levadura más frecuente 46%.
- 3-En niñas la causa más común de infección fue por patógenos respiratorios: *S.pyogenes* 70%



**DERMATOFITOS: COMPORTAMIENTO E INCIDENCIA EN EL AREA DE SALUD DE TOLEDO**

*Autor/a/s: SÁNCHEZ BRIGIDANO, M<sup>a</sup> DE LOS ANGELES. DE OLIVES MANUEL DE VILLENA, FRANCISCA FUENTES GONZÁLEZ, CRISTINA. VILLARRUBIA MARTIN-VILLAMUELAS, ELVIRA. HEREDERO GALVEZ, EVA.*

*Centro de trabajo: HOSPITAL VIRGEN DE LA SALUD. Localidad: TOLEDO*

*Dirección del primer firmante*

*Correo electrónico del primer firmante: maangelessb@sescam.jccm.es*

**Introducción:**

Las dermatofitosis o tiñas (Tinea) son micosis superficiales causadas por un grupo de hongos queratinofílicos estrechamente relacionados, denominados dermatofitos. Estos afectan la capa córnea de la piel, pelos y uñas.

Los dermatofitos se dividen en tres géneros que se distinguen por las características morfológicas de sus macroconidios: Trichophyton, Microsporum y Epidermophyton.

**Objetivos:**

Conocer las características epidemiológicas y aislamientos más frecuentes de los dermatofitos en el área sanitaria de Toledo en los años 2011-2012.

**Material y métodos:**

Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo donde se revisaron 1319 muestras: raspados de piel, pelo y uña procedentes de Atención primaria y Consultas externas de dermatología del Hospital Virgen de la Salud de un periodo comprendido entre Enero 2011 a Diciembre 2012. El diagnóstico lo llevamos a cabo mediante el cultivo en placa y tubo de Saboraud+Cloranfenicol a 26° durante 30 días y por examen directo con KOH; método de observación microscópica para un diagnóstico rápido, haciendo lecturas semanales de los cultivos y finalmente se realizó una identificación microscópica con azul de lactofenol a los cultivos positivos.

**Resultados:**

De un total de 1319 muestras (56 raspados de piel, 20 pelo y 17 uñas) obtuvimos 93 cultivos positivos por orden de frecuencia: 30.1% Microsporum canis, 29% Trichophyton mentagrophytes, 18.3% Trichophyton tonsurans, 11.8% Trichophyton sp y 10.8% Trichophyton rubrum.

Los 93 pacientes con cultivo positivo se agruparon en 4 grupos de edad: 45,2 % de 1-18 años, 17,2% de 18-30 años, 34,4 % de 30-65 años y 3,2 % de 65 años.

**CONCLUSIONES:**

Las especies más frecuentes en nuestra área sanitaria fueron: Microsporum canis y Trichophyton mentagrophytes.

El grupo de edad más afectado fue de 1-18 años.

**EVALUACIÓN DEL MEDIO CHROMID ESBL PARA LA VIGILANCIA ACTIVA DE PORTADORES DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO**

*Autor/a/s: RIVERA GENTIL, ROCIO; MAGRO TELLEZ, M<sup>a</sup> LUISA; ROSADO MONTERO, M<sup>a</sup> ISABEL; GÓMEZ REGORDAN, ISABEL; VILCHES OROZCO; PURIFICACIÓN.*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN MACARENA. Localidad: SEVILLA*

*Correo electrónico del primer firmante: rrgentil72@hotmail.com*

**Introducción:**

En las últimas décadas se ha producido un incremento de infecciones nosocomiales causadas por enterobacterias multirresistentes. El aumento en la incidencia de infecciones por enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en la comunidad y en el ámbito hospitalario plantea la necesidad de disponer de métodos rápidos para la detección de portadores. El medio chromID ESBL (bioMérieux) es un medio cromogénico selectivo que permite el despistaje inicial de enterobacterias BLEE.

**Objetivos:**

El objetivo del estudio fue evaluar la rentabilidad del medio cromogénico chromID ESBL (bioMérieux) para detectar portadores de enterobacterias BLEE en la unidad de neonatología de del Hospital Universitario Virgen Macarena y compararlo con el medio habitual utilizado en nuestro laboratorio (agar MacConkey con 4mg/l de cefotaxima).

**Material y Métodos:**

Se procesaron 80 muestras de frotis rectales procedentes de pacientes ingresados en la Unidad de Neonatología. Las muestras se sembraron en paralelo en el medio MacConkey agar suplementado con 4 mg/l de cefotaxima (MCC) y en el medio chromID ESBL (bioMérieux). Las placas se incubaron a 35°C en atmósfera aerobia. Se realizaron dos lecturas, a las 24 y 48h de incubación. La identificación de los aislados se realizó mediante pruebas bioquímicas (oxidasa, TSI, Urea e Indol) y galerías API (bioMérieux). El despistaje de la producción de BLEE se llevó a cabo mediante la técnica de doble disco con y sin clavulánico (CLSI) en agar Mueller Hinton y, cuando se sospechaba la hiperproducción de AmpC, en agar Mueller Hinton con 200 mg/l de cloxacilina. Si se observaba un aumento del halo en los cuatro discos en presencia de cloxacilina, se consideraba hiperproducción de AmpC.

**Resultados:**

Se detectó crecimiento bacteriano a las 24 horas en 50 muestras (62%), que se identificaron como enterobacterias productoras de BLEE en 16 muestras (20%), como enterobacterias hiperproductoras de AmpC en 33 (41%) y en un caso se aisló P. aeruginosa (1,2%). No se detectó ningún aislado adicional a las 48 horas. La sensibilidad para detectar enterobacterias BLEE fue del 87,5% para el chromID y del 100% para el MCC. Se identificaron en total 18 aislados BLEE: 11 (61%) E. coli, 4 (22%) K. pneumoniae, 1 (5%) K. oxytoca, 1 (5%) C. freundii y 1 (5%) E. cloacae. Los aislados hiperproductores de AmpC se identificaron como E. cloacae, detectándose con menos frecuencia en el medio chromID (79%) que en el MCC (100%). El medio chromID (bioMérieux) permitió la identificación directa de E. coli en 24 horas sin pruebas adicionales, con un 100% de concordancia con las pruebas bioquímicas.

**Conclusiones:**

El medio chromID ESBL (bioMérieux) muestra una sensibilidad satisfactoria (87,5%) para el despistaje en 24 horas de portadores de enterobacterias BLEE y es más selectivo para el crecimiento de hiperproductores de cefalosporinas. Por otra parte, la utilización de este medio, que identifica directamente E. coli BLEE, permite descartar de forma rápida portadores de este microorganismo en programas de vigilancia activa de patógenos nosocomiales (Klebsiella spp y Enterobacter spp BLEE principalmente).

**ENFERMEDAD INVASIVA PRODUCIDA POR STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE SEROTIPO 19A EN GALICIA**

*Autor/a/s: NATIVIDAD C. SOMAZA SERANTES, SUSANA MÉNDEZ LAGE, MARIA DOLORES PARDO CORRAL, ANDRES AGULLA BUDIÑO.*

*Centro de trabajo: AREA SANITARIA DE FERROL. Localidad: FERROL*

*Correo electrónico del primer firmante: natividad.somaza.serantes@sergas.es*

**Introducción:**

Las enfermedades producidas por Streptococcus pneumoniae, constituyen una importante causa de morbilidad y mortalidad, especialmente en los lactantes, los ancianos y los afectados por enfermedades crónicas. La superficie bacteriana se encuentra envuelta en su parte más externa por un polisacárido capsular. Según la estructura química y antigénica del polisacárido capsular, S. pneumoniae se clasifica en 93 serotipos. El serotipo 19A es uno de los más frecuentes y habitualmente asociado a cuadros graves y resistencia antimicrobiana.

La determinación del serotipo es un dato imprescindible en los estudios epidemiológicos y de control vacunal de la población. El laboratorio de Microbiología del Área Sanitaria de Ferrol, es el referente en Galicia para la identificación del serotipo y susceptibilidad de los neumococos de todas las muestras de enfermedad neumocócica invasiva (ENI).

## Objetivos:

Describir las características de la enfermedad neumocócica invasiva (ENI) producida por el *S. pneumoniae* serotipo 19A y determinar la sensibilidad a los antimicrobianos.

## Material y métodos:

Se estudiaron las cepas responsables de ENI procedentes de los hospitales de Galicia durante los años 2011 y 2012. El serotipado se realizó mediante el test de aglutinación de látex (Pneumolátex®) y la reacción de Quellung (antisueros del Statens Serum Institut).

La sensibilidad se determinó por microdilución en caldo (Sensititre®), siguiendo las recomendaciones del CLSI. La sensibilidad a la penicilina y a cefotaxima se confirmó por el método de tira de gradiente de antimicrobiano E-Test®. EL fenotipo de sensibilidad a los macrólidos se comprobó por el método de difusión en disco.

## Resultados:

De un total de 554 cepas, se encontraron 52 del serotipo 19A, representando el 9,4% del total de los aislamientos de *S. pneumoniae* productores de ENI en el período estudiado. El 59,6% de los pacientes fueron hombres. El 96 % de las cepas se aisló en adultos mayores de 18 años (46% en mayores de 65 años y 50% en adultos entre 45 y 64 años).

Los cuadros clínicos fueron: neumonía (79,2%), bacteriemia primaria (19,2%), empiema (3,8%), meningitis (1,9%), mastoiditis (1,9%) y queratitis (1,9%).

Todas las cepas fueron sensibles a la penicilina (CMI ≤ 2 µg/ml). Se encontró una cepa con sensibilidad intermedia a la cefotaxima (CMI=2). La resistencia a la eritromicina (CMI > 1 µg/ml) se detectó en 38 cepas (73,1%). De las cepas resistentes a eritromicina 26 fueron del fenotipo MLSC (68,4%), 11 del fenotipo M (28,9%) y solo una del fenotipo MLSI (2,6%). Todas las cepas fueron sensibles a levofloxacino y a vancomicina.

## Conclusiones:

El serotipo 19A se encontró en el 9,4% de los casos de ENI, siendo la neumonía bacteriémica el cuadro clínico mayoritario.

Se observó un gran porcentaje de cepas resistentes a eritromicina, con predominio del fenotipo MLSC.

No se encontró resistencia a penicilina, levofloxacino ni vancomicina, y sólo una cepa presentó sensibilidad intermedia a cefotaxima.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 036

## DESCRIPCIÓN DE LOS AISLAMIENTOS EN ÚLCERAS Y SU SENSIBILIDAD EN EL ÁREA SANITARIA DE FERROL

Autor/a/s: PARDO CORRAL María Dolores, PEÑA RODRIGUEZ María Fernanda, SOMAZA SERANTES Natividad

Centro de trabajo: ÁREA SANITARIA DE FERROL. Localidad: FERROL

Correo electrónico del primer firmante: lolipardo@yahoo.es

## Introducción:

Las heridas crónicas, como el pie diabético, úlceras por presión o de origen vascular, son un problema creciente que afecta al 2% de la población en países desarrollados. Sus implicaciones traspasan ampliamente el ámbito individual, ya que, además de disminuir la calidad de vida de quienes las padecen, conllevan un alto coste para los sistemas de salud y son parte activa en la aparición progresiva de la resistencia bacteriana.

## Objetivos:

Determinar los aislamientos más frecuentes y su sensibilidad antimicrobiana, en las muestras de úlceras que se reciben en el servicio de microbiología procedentes del Área Sanitaria de Ferrol durante el año 2012.

## Material y Métodos:

Las muestras estudiadas procedieron de toda el Área Sanitaria de Ferrol, fueron recogidas y enviadas al Servicio de Microbiología en hisopos con medio de transporte Stuart. Su procesamiento se llevó a cabo según los protocolos establecidos. Se valoraron los crecimientos bacterianos en cultivos puros o muy abundantes y predominantes, buscando especialmente la presencia de *Staphylococcus aureus* y especies de *Pseudomonas*. La identificación y sensibilidad de los microorganismos se realizó mediante sistemas automatizados de microdilución en caldo (Mi-

croscan, Siemens), y comprobando resultados anómalos con métodos de difusión en disco, y tira de gradiente antimicrobiano E-TEST.

## Resultados y conclusiones:

Durante el período 2012 se aislaron 1.110 microorganismos, de los cuáles 614 cepas fueron *S. aureus* (55%), 218 *Pseudomonas aeruginosa* (20%), 59 *Enterococcus* spp. (5%), 48 *Streptococcus agalactiae* (4%), 45 *Escherichia coli* (4%), 34 *Proteus mirabilis* (3%). Otros microorganismos se aislaron en un 9% de las úlceras. En relación a la sensibilidad antimicrobiana, de las 614 cepas de *S. aureus*, un 24% fueron resistentes a la meticilina-oxacilina (SAMR). De las 45 cepas de *E. coli*, 7 cepas (15,5%) fueron productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Todos los enterococos fueron sensibles a penicilina. El 21% de las cepas de *S. agalactiae* presentó resistencia a la eritromicina. En la siguiente tabla se expresa el porcentaje de sensibilidad de los bacilos gramnegativos más frecuentes.

Antibiótico		E. coli (45 cepas)	P. mirabilis (34 cepas)	P. aeruginosa (218 cepas)
Betalactámicos	Ampicilina	13	53	No recomendado
	Amoxicilina/ Clavulánico	64	91	No recomendado
	Piperacilina/ Tazobactam	89	100	94
	Cefuroxima	80	97	No recomendado
	Cefotaxima	80	100	No recomendado
	Ceftazidima	80	100	91
	Cefepime	80	100	No recomendado
	Imipenem	100	100	90
Aminoglicósidos	Gentamicina	78	68	83
	Tobramicina	80	88	94
	Amikacina	100	100	93
Quinolonas	Ciprofloxacino	44	65	69
Otros	Cotrimoxazol	58	44	No recomendado

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 037

## COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN PARA STREPTOCOCCUS BOVIS

Autor/a/s: M. Aránzazu Gandía González, Isabel Dolores Vázquez Barba, José Antonio Lepe Jiménez.

Centro de trabajo: H. U. Virgen del Rocío, Sevilla. Localidad: Sevilla

Correo electrónico del primer firmante: agandia21@hotmail.com

## Introducción:

Los *Streptococcus 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* (S.gallolyticus subs gallolyticus) asociado a lesiones malignas de colon; *S. bovis* II-1 (S.infantarius Subsp. coli) y *S. bovis* II-2 (S.gallolyticus subsp. pasterianus), productor con más frecuencia 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.

## Objetivos:

Comparar dos métodos de identificación: panel combo POS MicroScan vs galería de API 20 Strep.

## Material y métodos:

Se estudiaron 26 aislamientos de *S. bovis* correspondientes a pacientes individuales con diagnóstico clínico de bacteriemia, recogidas entre los años 2008-2012. 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 20 Strep (Biomerieux) con lectura manual.

## Resultados:

La galería API 20 Strp identificó el 100% de las cepas como *S. bovis*, siendo identificado a nivel de biotipo el 57,7% como *S. bovis*I, el 23% como *S. bovis* II-2, el 7,69% como *S. bovis*II-1, el 7,69% como *S. bovis* y el 3,84% como *S. bovis* 3. El panel combo POS 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 corresponde 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. Boris* 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 especie cuando el *S. bovis* pertenece al biotipo I ó II-2 aunque, siguiendo los patrones de positividad antes señalados, podemos determinar los subtipos más frecuentes del *S. bovis*, mediante las pruebas de identificación del panel.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 038

## DIFERENCIACIÓN DE ESPECIES DEL COMPLEJO STREPTOCOCCUS BOVIS/EQUINUS POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE MASAS MALDI-TOF

*Autor/a/s: Isabel Dolores Vázquez Barba, M. Aránzazu Gandía González, José Antonio Lepe Jiménez.*

*Centro de trabajo: H. U. Virgen del Rocío, Sevilla. Localidad: 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 (Biomerieux) 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 (Biomerieux) según las instrucciones del fabricante.

## Resultados:

De los 24 episodios de bacteriemia, el sistema API 20 Strep identificó 17 de ellos como *S. bovis* I y 7 como *S. bovis* II. El sistema MALDI-TOF caracterizó como *Streptococcus gallolyticus* 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 0,125mg/L, CMI90 0,38mg/L) y a vancomicina (CMI50 0,125, CMI90 0,38).

## Conclusión:

El sistema MALDI-TOF MS (MicroFlex Bruker) es un sistema rápido y fiable 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: 043

## EVALUACION DE UN ENSAYO CROMATOGRÁFICO Y UNA TÉCNICA DE QUIMIOLUMINISCENCIA PARA DETECCIÓN DE IGM FRENTE ANTÍGENO DE CÁPSIDE VIRAL DEL VIRUS DE EPSTEIN BARR

*Autor/a/s: ARANDA ARANDA MARIA DOLORES, VALERA ARCAS MARIA DOLORES, SAMPEDRO DE LA TORRE INMACULADA, GALINDO MARTINEZ JUANA GULLERMINA, BELDA GRINDLEY FRANCISCA, MORON MARTIN MARIA ISABEL*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES. Localidad: GRANADA*

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

## Objetivo:

El objeto de este estudio ha sido evaluar un método cromatográfico (IC) para detección de IgM frente antígeno de cápside viral del virus de Epstein Barr (VCA EBV) y compararlo con el ensayo quimioluminiscente (CLIA) Inmulate 2000.

## Métodos:

Sueros: se han utilizado 138 sueros de otros tantos pacientes divididos en 2 fases:

Fase Prospectiva: 80 sueros de otros tantos pacientes recibidos en nuestro laboratorio para diagnóstico de mononucleosis infecciosa entre junio-julio 2012.

Fase retrospectiva: 58 sueros conservados (-20°), con IgM previa conocida positiva a VCA de EBV mediante inmunofluorescencia (IFI Scimedx Corporation, USA).

Métodos Serológicos: Todos los sueros se ensayaron en paralelo mediante el ensayo quimioluminiscente automatizado Immulite EBV 2000 (Siemens Healthcare Diagnostic, Germany) y

Mediante el test de IC Virapid Mono (Viracell, España). El ensayo CLIA se realizó de modo automático en la plataforma Immulite 2000 XPI. El gold estándar para un verdadero positivo se definió como una muestra con los 2 ensayos anteriores positivos. Las discrepancias se resolvieron mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI).

## Resultados:

De los 80 sueros recibidos para diagnóstico de mononucleosis infecciosa, solo 2 muestras (1.6%) fueron positivas por ambos ensayos CLIA e IC. Hubo 5 discrepancias (IgM positivas por solo uno de los 2 métodos), y todas fueron IgM negativa por IFI. En el estudio prospectivo la especificidad del CLIA Immulite fue del 97.4% (76/78), mientras que la de IC lo fue del 98.7% (77/78). La concordancia entre los 2 métodos ha sido del 95% (131/138). En el global de muestras ensayadas, la sensibilidad del ensayo CLIA Immulite y de la IC ha resultado del 86.6% (56/60) y del 80% (48/60) respectivamente.

## Conclusión:

Ambos ensayos presentan una buena sensibilidad y especificidad en la detección de IgM para diagnóstico de mononucleosis infecciosa por VEB. El ensayo CLIA permite el procesamiento de un elevado volumen de muestras de modo continuo, mientras que la IC no requiere preparación técnica ni equipamiento adicional.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 044

## EVALUACION DEL ENSAYO QUIMIOLUMINISCENTE LIAISON MEASLES IGM PARA DIAGNOSTICO DE SARAMPION

*Autor/a/s: VALERA ARCAS MARIA DOLORES/ARANDA ARANDA MARIA DOLORES/ SAMPEDRO ANTONIO*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES. Localidad: GRANADA*

*Correo electrónico del primer firmante: mvalera@alorenate.es*

## Introducción:

La detección de IgM específica se considera el método de elección para el diagnóstico de laboratorio de sarampión. Por tanto, es importante evaluar los nuevos inmunoensayos comerciales con objeto de asegurar una alta calidad de las pruebas de diagnóstico. El propósito de este estudio ha sido evaluar el rendimiento diagnóstico de un nuevo ensayo quimioluminiscente (CLIA) automatizado para la detección de IgN frente al virus sarampión (LIAISON® Measles IgM, Dia Sorin)



y compararlo con el inmunoensayo enzimático (EIA) Enzygnost anti Measles IgM (Siemens).

## Material y métodos:

Estudio retrospectivo con 2 paneles de sueros conservados a -20° C.

- Panel 1 (Positivo): 110 sueros de pacientes con sarampión confirmado por el laboratorio (mediante cultivo y/o PCR en exudado faríngeo u orina tomada simultáneamente al suero) y recibidos entre enero y mayo de 2011. Las muestras pertenecían a pacientes de un brote de sarampión detectado en Sevilla en 2011.

- Panel 2 (Negativo): 95 sueros distribuidos como sigue:

- 43 Adulto sanos sin historia de sarampión

- 52 Pacientes con IgM positiva frente a otros agentes infecciosos.

Todas las muestras se ensayaron por EIA Enzygnost y CLIA Liaison siguiendo instrucciones del fabricante.

Para el cálculo de la sensibilidad y especificidad un resultado indeterminado se consideró el más adverso.

## Resultados:

La concordancia entre ambos métodos fue del 95,1%. De los 110 sueros del Panel 1 el ensayo CLIA dio como negativos 2 mientras que el EIA 5.

En el Panel 2 hubo 3 discordancias (1 por CLIA y 2 por EIA).

La sensibilidad y especificidad de ambos ensayos se reflejan en la siguiente tabla:

	<b>Sensibilidad (IC 95%) Panel 1</b>	<b>Especificidad (IC 95%) Panel 2</b>	<b>Verdaderos Positivos</b>	<b>Falsos Positivos</b>
CLIA Liaison	98,1% (93-99)	98,9% (94-99)	108	1
EIA Enzygnost	95,5% (89-98)	97,8% (93-99)	105	2

## Conclusiones:

La buena sensibilidad y especificidad del ensayo LIASON® Measles IgM junto a su elevada automatización lo convierten en una buena alternativa a los tradicionales inmunoensayos para el diagnóstico de laboratorio del sarampión.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 045

## COMPARACIÓN DEL TEST DEL ALIENTO CON TRES TÉCNICAS NO DEPENDIENTES DE ENDOSCOPIA EN EL DIAGNOSTICO DE LA COLONIZACIÓN -INFECCIÓN DEL HELICOBACTER PYLORI EN UNA POBLACIÓN UNIVERSITARIA DE GRANADA

Autor/a/s: María Angeles Espigares Gallardo, Francisca López Cobos, Purificación Cámara Medina, Francisca Castillo Pérez, Carmen Pérez Pinar, María Dolores Mérida del Caño, Antonio Sánchez Alvarez. Estudio coordinado por el Dr. José Liébana Ureña, Jefe de Sección del Servicio de Microbiología del H.U San Cecilio de Granada y Catedrático de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad de Granada.

Centro de trabajo: Hospital Universitario San Cecilio. Localidad: Granada

Correo electrónico del primer firmante: angelinespigares@hotmail.es23009517

## Introducción:

De las diferentes pruebas para realizar el diagnóstico de Helicobacter pylori (Hp) existen las no endoscópicas como el test del aliento (TA), la detección de antígenos de Hp por inmunocromatografía a partir de las heces (IC) y la determinación de anticuerpos (AcHp) <sup>1</sup>. El TA es considerado de referencia <sup>2</sup>.

## Objetivos:

Valorar la utilidad de las técnicas IC y AcHp, comparándolas con el TA en el diagnóstico de la colonización-infección de Hp en universitarios granadinos.

## Material y métodos:

La población estudiada comprendió 121 alumnos de las Facultades de Odontología y Biblioteconomía de la Universidad de Granada con edades comprendidas entre 18 y 24 años. Todos los participantes dieron su autorización por escrito y el estudio fue aprobado por los distintos equipos decanales. Las pruebas efectuadas fueron: 1) TA, se usó un kit comercializado (UBTest de Otsuka Pharmaceutical S.A. Barcelona, ref. 9186151C). 2) IC, se empleó Letitest H. pylori Card (Laboratorios Leti, Madrid, ref. PG820127F). 3) AcHp se utilizó una técnica de aglutinación latex

que determina cualitativamente los anticuerpos totales (AcTHp) (Helicogen, Biokit SA. 08186 Lliçà d'Amunt, Barcelona); los sueros que resultaron positivos se procesaron por inmunoensayo cuantitativo para detectar IgA específica (AcIgA) (Bioelisa Helicobacter IgA, Biokit SA, ref. 30000-1142, 08186 Lliçà d'Amunt, Barcelona). Como test estadístico se utilizó el índice Kappa <sup>3</sup>.

## Resultados:

Las positivities y porcentajes de las diferentes pruebas se observan en la siguiente tabla.

	<b>Número</b>	<b>%</b>
<b>TA</b>	44	36,4%
<b>IC</b>	53	43,8%
<b>AcTHp</b>	61	50,4%
<b>AcIgA</b>	40	33,1%

Se obtuvieron los siguientes índices de correlación con respecto al TA: 0,607 para IC, 0,537 para AcTHp y 0,672 para AcIgA

## Conclusiones:

La determinación individualizada de AcIgA es una excelente alternativa al TA en el diagnóstico de la colonización-infección por Hp. Le siguen en valoración IC y AcTHp.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 057

## ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA CMI DE IMPENEM PARA AISLADOS CLÍNICOS DE PROTEUS SPP, MORGANELLA SPP Y PROVIDENCIA SPP MEDIANTE MICRODILUCIÓN COMERCIAL Y E-TEST

Autor/a/s: RIVERA GENTIL, ROCIO; ROSADO MONTERO, M<sup>a</sup> ISABEL; MAGRO TELLEZ, M<sup>a</sup> LUISA; GÓMEZ REGORDAN, ISABEL; VILCHES OROZCO; PURIFICACIÓN

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN MACARENA. Localidad: SEVILLA

Correo electrónico del primer firmante: rrgentil72@hotmail.com

## Introducción:

Los carbapenémicos son los beta-lactámicos de más amplio espectro, su uso está restringido a infecciones por bacterias multirresistentes. En 2010 el Clinical and laboratory standards institute (CLSI) modificó los puntos de corte de carbapenémicos para enterobacterias. Un alto porcentaje de aislados de la tribu Proteaceae con una concentración mínima inhibitoria (CMI) de imipenem  $\geq 2$  mg/l por el sistema semiautomatizado de paneles de MicroScan (WIDER, Soria Melguizo), al aplicar estos nuevos puntos de corte su interpretación cambiaba de sensible a intermedio o resistente.

## Objetivos:

Comparar los resultados de CMI de imipenem en aislados de Proteus spp, Morganella spp y Providencia spp obtenidos mediante el sistema WIDER con los obtenidos mediante tiras de E-test.

## Material y Métodos:

Se incluyeron en el estudio todos los aislados clínicos de Proteus spp, Morganella spp y Providencia spp con CMI a Imipenem  $\geq 2$  mg/l entre septiembre de 2010 a junio de 2012. La identificación y determinación de la CMI se realizó mediante de paneles de MicroScan (WIDER, Soria Melguizo) del sistema semiautomatizado WIDER. Los resultados se compararon con la CMI obtenida mediante técnica de antibiograma no automatizada con tiras E-test (BioMérieux) de Imipenem. Se valoró que existía concordancia cuando los valores de CMI de cada método variaban  $\pm 1$  dilución.

## Resultados:

Durante el período de estudio se identificaron en el laboratorio los siguientes aislados de la tribu: 665 P. mirabilis, 13 de P. vulgaris, 124 de M. morganii y 19 de P. stuartii. Se observó una CMI  $\geq 2$  mg/l de imipenem en el 22,9% de los aislados de P. mirabilis, 58,9% de M. morganii y 42,1% de P. stuartii. En el caso de P. mirabilis, en 122 aislados (80,3%) se obtuvo una CMI  $\leq 1$  mg/ml por E-Test independientemente de la CMI obtenida con el panel. En cambio, sólo en 12 aislados (15%) de M. morganii y 3 (37,5%) aislados de P. stuartii el valor de CMI por E-test fue  $\leq 1$  mg/ml. La concordancia entre los dos métodos fue del 51,9% en el



conjunto de aislados analizados y por especies del 32.9% para *P. mirabilis*, 87.7% para *M. morgannii* y 87.5% para *P. stuartii*.

### Conclusiones:

Hemos observado una baja concordancia entre los resultados de CMI de imipenem por los dos métodos analizados, que no afecta por igual a todas las especies de la tribu Protaceae. Sería necesario comprobar el valor de CMI de imipenem por otra metodología cuando se usan paneles de WIDER, sobre todo en el caso de *P. mirabilis*.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 058**

### ESTUDIO DE LAS "PETICIONES NO ADMITIDAS" EN EL AREA SANITARIA DE VALME.

*Autor/a/s: ISNARD CARO LEONARDO JÉSUS, SIERRA ATIENZA CELESTINA, MORALES GALAN PILAR, ALLER GARCÍA ANA ISABEL, MARTÍN-MAZUELOS ESTRELLA.*

*Centro de trabajo: H.U. VALME.. Localidad: SEVILLA.*

*Correo electrónico del primer firmante: leonardois2010@hotmail.com*

### Introducción:

La confirmación del diagnóstico microbiológico se establece mediante la observación e identificación del agente causal en una muestra clínica recogida del sujeto en estudio. De ahí la importancia de una buena recogida, conservación, transporte y recepción de la muestra en el laboratorio dentro de la fase pre-analítica.

El proceso de Soporte de los laboratorios clínicos, establece una serie de indicadores de calidad entre los que destacamos "Peticiones no admitidas". Las causas que dan lugar al rechazo de una petición son numerosas, algunas conllevan la falta de realización de las determinaciones solicitadas total o parcialmente. En la mayor parte de los casos generan una segunda consulta médica o de enfermería, inconvenientes al paciente al tener que realizar una nueva toma de muestra, consumo de recursos materiales y humanos y el consiguiente retraso en la toma de decisiones clínicas.

### Objetivos:

El objetivo general de este estudio es analizar las causas que dan lugar a "Peticiones no admitidas" en las solicitudes de microbiología.

### Material y métodos:

Las causas detectadas se registraron como incidencias en nuestro programa informático con los siguientes comentarios:

"Muestra no recibida envíen, nueva muestra", "no procede, heces no diarreicas", "muestra inadecuada", "muestra mal identificada", "muestra sin identificar", "contenedor/ tubo roto envíen nueva muestra".

A partir de los registros se establecieron los siguientes indicadores: % global de las incidencias, % de las incidencias individualizadas, tipo de muestra e incidencia por centro de procedencia.

### Resultados:

Durante el año 2012 hemos recibido en nuestro laboratorio 128.948 peticiones de rutina intrahospitalarias y extrahospitalarias (Centros Periféricos de Especialidades y Centros de Atención Primaria), registrándose 675 incidencias (0,52%). Las incidencias que se encontraron con mayor frecuencia fueron "no procede, heces no diarreicas" (41,9%) y "muestra no recibida, envíen nueva muestra" (41,8%) y la de menor frecuencia "tubo roto envíen nueva muestra" (0,59%).

En el análisis por tipo de muestra encontramos que las heces y orinas fueron las muestras que registraron el mayor número de incidencias. En las incidencias por centros encontramos el mayor número en los Centros de Atención Primaria. Dentro de los servicios intrahospitalarios, medicina general fue el que presentó mayor frecuencia de incidencias (36.1 %)

### Conclusión:

1. En nuestro laboratorio se registraron un número de incidencias bajo (0,52%)
2. La muestra de heces fue la que presentó globalmente mayor número de incidencias, tanto por tipo de muestra como por causa de incidencia.
3. El mayor número de incidencias se detectó en las muestras extrahospitalarias.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 073**

### PRUEBA RAPIDA DE DIAGNOSTICO IN VITRO PARA LA DETECCION DEL VIRUS RESPIRATORIO SINCIITAL EN SECRECCIONES NASOFARINGEAS

*Autor/a/s: QUIROSA MORENO, MARIA BELEN - RIVAS ALMAGRO, MARIA ELENA - MEDINA TORRES, ELOISA*

*Centro de trabajo: HOSPITAL GENERAL BASICO DE MOTRIL. Localidad: MOTRIL*

*Correo electrónico del primer firmante: EMMEBEL@HOTMAIL.COM*

### Objetivos:

El RSV o virus sincitial respiratorio es la principal causa de infecciones respiratorias durante todas las edades. Con el objeto de conocer la prevalencia de esta infección en esta área de salud, hemos querido analizar los resultados efectuados a todos los niños < 4 años que en el ámbito de urgencias se le ha solicitado despistaje de VRS en secreciones nasofaríngeas, así la importancia de realizar esta prueba por nuestro Laboratorio de Urgencias.

### Método:

Tanto por el Laboratorio de Urgencias como el de Rutina, se han analizado 163 muestras de secreciones nasofaríngeas de lactantes y niños <4 años solicitadas al Laboratorio.

El siguiente test es el que describe Leti diagnostic Labs.

- Mezclar en el tubo de ensayo 250 µl de muestra con 200 µl del tampón de extracción para alcanzar una relación de dilución de la muestra de 1/2.
- Agitar bien para homogeneizar la solución.
- Sumergir la tira sensible de reactivo y dejar reaccionar durante 15 minutos.
- Resultado negativo de la prueba: Aparece una línea verde en la posición de la línea control (C) (línea superior). No aparecerá ninguna otra banda.
- Resultado positivo de la prueba: Además de la banda verde en la línea de control (C) aparece una banda rojiza purpúrea visible en la posición de la línea de prueba (T).

### Resultados:

De todas las solicitudes de nuestra área tanto de salud como de pacientes hospitalizados, en el año 2011 se realizaron 130 muestras de secreciones con un total de diagnósticos positivos del 52,3%, siendo 133 las muestras en el 2012 con un 45,85% de diagnósticos positivos. Del total de muestras de los 2 años, 78 test se realizaron en el Laboratorio de Urgencias siendo positivos el 37,3%.

### Conclusiones:

La rapidez en la detección de VRS en secreciones nasofaríngeas, es de especial interés en el Laboratorio de Urgencias, ya que una prueba rápida y sin demora ha demostrado que es determinante al aumentar la eficacia de los casos diagnosticados. La rapidez en el diagnóstico conlleva inicio precoz del tratamiento con mejora en los resultados de buena evolución, disminuyendo así el tiempo de estancia hospitalaria, como las infecciones nosocomiales entre pacientes y familiares del servicio de pediatría.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 078**

### ETIOLOGIA DE LAS ARTRITIS INFECCIOSAS DE PACIENTES DEL ÁREA SUR DE SEVILLA

*Autor/a/s: Morales Galán Pilar, Isnard Caro leonardo Jesús, Zakariya Yuosel Ismail, García López José Luis, Martín Mazuelos Estrella*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario de Valme. Localidad: Sevilla*

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

### Introducción:

La artritis séptica constituye una urgencia médica debido a que la reacción inflamatoria producida en el espacio articular puede dar lugar a destrucción del cartílago articular si la inflamación se mantiene el tiempo suficiente. El diagnóstico microbiológico rápido puede contribuir a la instauración de un tratamiento correcto y reducir la lesión articular.

## Objetivo:

Estudiar los microorganismos aislados a partir de muestras de líquidos articulares procesados en nuestro laboratorio en los últimos cuatro años

## Material y métodos:

Se cultivaron 3254 líquidos procedentes de articulaciones naturales y protésicas. A su llegada al laboratorio todas las muestras se les hizo una tinción de Gram y se sembraron en los medios habituales y se incubaron durante 48 horas a 35 °C en atmósfera con un 5% de CO<sub>2</sub>. La lectura se realizó a las 24 y 48 horas. La identificación de los microorganismos aislados se realizó mediante el sistema Vitek 2 (bioMérieux) o MicroSCAN WalkAway 96 (Siemens), cuando fué necesario se usaron pruebas convencionales adicionales.

## Resultados:

Fueron positivas 117 muestras (3.6%). En la siguiente tabla 1 se muestra la distribución de los microorganismos aislados.

Tabla 1: Microorganismos aislados de muestras de líquidos articulares en los últimos cuatro años en nuestro laboratorio.

Microorganismos	209	2010	2011	2012	TOTAL	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n	%
Staphylococcus aureus	17 (70.8)	22 (88.0)	26 (86.6)	31 (83.8)	96	82.2
Estaf coagulasa neg	1 (4.2)	1 (4.0)	2 (6.7)	1 (2.7)	5	4.4
Streptococcus agalactiae	2 (8.2)	1 (4.0)	2 (6.7)	3 (8.1)	8	6.9
Streptococcus pyogenes	2 (8.2)	-	-	-	2	1.7
Escherichia coli	-	1 (4.0)	-	-	1	0.8
Proteus mirabilis	-	-	-	1 (2.7)	1	0.8
Pseudomonas aeruginosa	1 (4.2)	-	-	-	1	0.8
Kingella kingae	-	-	-	1 (2.7)	1	0.8
Aeromonas hydrophila	1 (4.2)	-	-	-	1	0.8
Candida parapsilosis	1 (4.2)	-	-	-	1	0.8
<b>TOTAL</b>	<b>24</b>	<b>25</b>	<b>30</b>	<b>37</b>	<b>117</b>	

## Conclusiones:

Los Cocos Gram Positivos fueron los microorganismos que se aislaron con más frecuencia de ellos S aureus fue el mas aislado seguido de S agalactiae. 2. Los bacilos Gram negativos y los hongos juegan un papel secundario en esta patología

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 083

## IDENTIFICACION DE HONGOS FILAMENTOSOS MEDIANTE MALDI-TOF

Autor/a/s: Valderrama Moral, Francisco Antonio; Ortega Pérez, Isabel

Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Localidad: Valladolid

Correo electrónico del primer firmante: elvengala7@hotmail.com

## Introducción:

La espectrometría de masas (MALDI-TOF) es una técnica que se está introduciendo en los laboratorios de Microbiología Clínica permitiendo acortar los tiempos de identificación de los microorganismos. En los hongos filamentosos esto es importante porque precisan de largas incubaciones para alcanzar la madurez, y una vez alcanzada ésta proceder al estudio macro y microscópico para su determinación. La identificación mediante MALDI-TOF se basa en el estudio de la huella proteica del microorganismo. Se han propuesto varias técnicas de extracción de proteínas para la identificación por MALDI-TOF, algunas no proporcionan buenos resultados y otras son muy laboriosas.

## Objetivos:

El objetivo de este trabajo es evaluar una nueva técnica de extracción de proteínas para identificar los hongos filamentosos.

## Material y métodos:

Se han estudiado los aislamientos de hongos filamentosos realizados en el Servicio de Microbiología del Hospital Clínico Universitario de Valladolid entre octubre de 2012 y enero de 2013. Los hongos se han cultivado en medio de Sabouraud + cloranfenicol, a 28 °C.

A diferentes tiempos de incubaciones se ha realizado la extracción de proteínas de la siguiente forma: Se emulsiona en un tubo eppendorf con 300 ml de agua destilada calidad HPLC un fragmento de la colonia, añadiendo después 900 ml de etanol absoluto y centrifugando a 13000 rpm durante 10 minutos. Se retira el sobrenadante y se añaden 10 ml de ácido fórmico al 70%. Pasados 5 minutos se agregan 10 ml de acetonitrilo que se dejan actuar 10 minutos para finalmente centrifugar 2 minutos a 13000 rpm.

Se toma 1 ml del sobrenadante que se deposita en la placa porta muestras, se deja secar y se añade 1 ml de matriz (ácido a-ciano-4-hidroxinámico 2,5 mg; 250 ml ácido trifluoroacético 2,5% y acetonitrilo 50% en agua destilada calidad HPLC). Cuando se ha secado se introduce la placa porta muestras en el equipo y se procede a su análisis.

El software del equipo proporciona una lista de los microorganismos más probables y una puntuación de cada uno. El fabricante afirma que un score >2300 es una identificación muy probable de especie, scores >2000 y <2300 corresponden a identificaciones seguras de género y probables de especie, scores >1700 y <2000 como probables de género y scores <1700 como identificación no fiable.

## Resultados y discusión:

Se identificaron 25 hongos filamentosos cuyos resultados son los siguientes: 13 Trichophyton sp., 6 Aspergillus sp., 2 Microsporium sp., 2 Paecilomyces sp., 1 Fusarium sp. y 1 Penicillium sp.

El score medio de todas las identificaciones ha sido 1603 (± 285), y los escores medios a los 7, 14, 21, 30, 37 y 44 días de incubación han sido respectivamente 1581 (± 253), 1622 (± 260), 1536 (± 255), 1561 (± 288), 1366 (± 192) y 1454 (± 107)

Aunque el fabricante propone escores más altos, en trabajos recientes se afirma que scores inferiores pueden ser suficientes para una correcta identificación ya que correlacionan bien con los métodos de referencia.

## Conclusiones:

La identificación de hongos filamentosos se ve mejorada por el MALDI-TOF ya que se reducen los tiempos de incubación de los hongos para su identificación pues se identifican con un menor grado de madurez.

La duración de la incubación no es un factor determinante en la identificación de los hongos filamentosos.

La técnica estudiada es más simple y cómoda que la sugerida por el fabricante y proporciona resultados de identificación aceptables

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 084

## COMPARACION DE DOS MÉTODOS PARA LA IDENTIFICACION DE BACTERIAS ANAEROBIAS POR ESPECTROMETRIA DE MASAS (MALDI-TOF)

Autor/a/s: Valderrama Moral, Francisco Antonio; Ortega Pérez, Isabel

Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario Valladolid. Localidad: Valladolid

Correo electrónico del primer firmante: elvengala7@hotmail.com

## Introducción:

La tecnología Matriz Assisted Laser Desorption/Ionization Time Of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) aplicada a la identificación de microorganismos, ha permitido disminuir el tiempo necesario para llevar a cabo el diagnóstico microbiológico si lo comparamos con los métodos bioquímicos clásicos. Con respecto a las bacterias anaerobias esto es importante debido a que algunas requieren un tiempo prolongado de incubación en anaerobiosis para su identificación mediante la metodología habitual (API 20 A BioMérieux).

## Objetivos:

Evaluar dos métodos de análisis mediante el sistema MALDI-TOF aplicados a bacterias anaerobias de importancia clínica.

## Material y métodos:

El estudio se realizó sobre 74 aislamientos de bacterias anaerobias.

Los métodos utilizados son:

- Muestra directa: Poner la colonia sobre la placa porta muestras del MALDI-TOF y añadir 1 ml de matriz (ácido a-ciano-4-hidroxinámico 2,5 mg; 250 ml ácido trifluoroacético 2,5% y acetonitrilo 50% en agua destilada calidad HPLC)

- Extracción en placa con ácido fórmico: Se pone 1 ml de ácido fórmico 70% en la placa porta muestras del MALDI-TOF y se suspende la colonia en el pocillo. Al secarse se añaden 2 ml de matriz.

La identificación se puntúa mediante un score comprendido entre 0 a 3. Scores inferiores a 1,699 se corresponden con identificaciones poco fiables. Scores comprendidos entre 1,7 y 2 se corresponden con identificación a nivel de género. Scores >2000 y <2300 corresponden a identificaciones seguras de género y probables de especie, scores >1700 y <2000 como probables de género y scores <1700 como identificación no fiable

### Resultados:

Se identificaron 65 bacterias anaerobias (87,8%) (41 grampositivas y 24 gramnegativas), cuyos resultados son los siguientes:

	Muestra directa		Extracción AF70%	
	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar
Gram (+)	1,96	0,49	2,01	0,40
Gram (-)	2,13	0,48	2,20	0,26
TOTAL	2,02	0,49	2,08	0,37

### Conclusiones:

El método de identificación con ácido fórmico sobre placa porta muestras mejora el promedio y la desviación del score tanto en bacterias anaerobias grampositivas como bacterias anaerobias gramnegativas.

En el caso de los grampositivos se consigue aumentar un promedio de mejora que hace que la identificación con muestra directa sea fiable a nivel de género, mientras que si utilizamos la extracción en placa sobre fórmico, este score aumenta de forma que el resultado es fiable a nivel de especie.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 085**

### DETECCIÓN DE UNA NUEVA DIANA POR PCR A TIEMPO REAL PARA IDENTIFICACIÓN Y DIAGNÓSTICO DE STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

*Autor/a/s: Sánchez Alvarez Antonio, Pérez Pinar Carmen, Mérida del Caño María Dolores, Espigares Gallardo María Angeles, López Cobos Francisca, Camara Purificación, López Josefa, Chueca Natalia, Pérez López J.A, Escobar T., García García F.*

*Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario San Cecilio.. Localidad: Granada*  
*Correo electrónico del primer firmante: josantsanchez@hotmail.com*

### Introducción:

El diagnóstico de la enfermedad invasiva neumocócica (EIN) es difícil, sobre todo en población pediátrica. Aunque existen técnicas rápidas para detección de proteínas de *Streptococcus pneumoniae*, test inmunocromatográfico (ICT) en muestras de orina, detección de perfiles proteicos por espectrofotometría de masas (MALDI-TOF) a partir de aislados o de hemocultivos, la sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de EIN es baja. En cambio, el uso de la PCR en muestra directa (plasma, LCR, líquido pleural, peritoneal o articular) permite realizar un diagnóstico sensible y específico.

### Objetivos:

Desarrollar una técnica rápida basada en PCR a tiempo real para la detección de cepas de *Streptococcus pneumoniae* para ayudar en el diagnóstico de EIN y para todos los casos en los que se busque una identificación certera de la bacteria.

### Material y métodos:

Las dianas de las PCRs actuales se han dirigido a genes que codifican factores de virulencia y se ha visto que pueden dar falsos positivos. Basándonos en los estudios de Marie-Francoise Prère (Diagn Mic Inf Dis. 2011; 70:45-53), se ha diseñado un nuevo primer para amplificar una región que contiene 213 nt del extremo 3' del gen SPN23F20600 y 198nt del extremo 5 del gen SPN23F20590 y 22 nt de una región entre estos dos genes. La región que abarca el extremo 3' del gen PN23F20600 y la región intergénica contienen la mayoría de las divergencias entre las especies más estrechamente relacionadas con *S. pneumoniae*.

El tiempo de realización de la técnica real es de una hora y treinta minutos.

### Resultados:

Como punto de partida se obtienen 1,2 ng de ADN extraído a partir de colonias de *S. pneumoniae* procedentes de placas de agar sangre, y se realizan diluciones seriadas de 10 campos para determinar la sensibilidad de la técnica. El límite mínimo de detección fue de 30 fg, el cual equivale a 14 genomas por microlitro (un genoma de *S. pneumoniae* se corresponde con 2,2 fg of DNA) El tamaño del genoma de 2,1 Mb se determinó de los datos procedentes del Wellcome Trust Sanger Institute. La regresión lineal de los datos obtenidos demuestra una correlación entre el log cantidad de ADN de *S. pneumoniae* y los valores de CT de  $R^2 = 0,99$ . Para analizar la especificidad se han utilizado cepas control del grupo viridans y no viridans y en ningún caso se amplificaron especies distintas a *S.pneumoniae*.

### Conclusiones:

Se describe un procedimiento de PCR a tiempo real para detección de genoma de *Streptococcus pneumoniae*, que puede ser utilizado para facilitar y mejorar el diagnóstico de EIN.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 090**

### ESTUDIO COMPARATIVO DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA EN AISLAMIENTOS URINARIOS EN DOS FRANJAS DE EDAD

*Autor/a/s: JIMENEZ MARTIN REMEDIOS, GARCÍA LÓPEZ M<sup>ª</sup>NIEVES, GARCÍA LÓPEZ M<sup>ª</sup> DOLORES, PARDO MOLINA M<sup>ª</sup>BELÉN, LÓPEZ PLATERO DOLORES LUCÍA.*

*Centro de trabajo: HOSPITAL GENERAL BÁSICO DE LA AXARQUÍA. Localidad: VÉLEZ-MÁLAGA*

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

### Introducción:

La infección del tracto urinario representa el principal proceso infeccioso atendido en las consultas de atención primaria.

El tratamiento antibiótico de estos procesos constituye un elevado gasto farmacéutico, por tanto es muy importante conocer la sensibilidad antibiótica de nuestra área de influencia para instaurar el tratamiento más adecuado.

### Objetivos:

Conocer la sensibilidad de los aislamientos urinarios en los dos grandes grupos de edad, en función de los urocultivos positivos entre (0-5 años) y superior a 65 años.

### Material y método:

Las muestras positivas son cultivadas en el medio cromogénico CPS-ID3(bioMerieux)utilizando asa calibrada de 10 µl.

Este medio permite la identificación directa de la mayor parte de gérmenes productores de ITU. La identificación del resto de los gérmenes y el estudio de sensibilidad a los antibióticos se realizó mediante sistema automatizado VITEK-2 (bioMerieux), siguiendo las instrucciones del fabricante.

### Resultados:

Los microorganismos más frecuentemente aislados en las dos franjas de edad estudiadas son las siguientes: Mayor de 65 años E.coli 67.87%, K. pneumoniae 15.28%, P.mirabilis 5.46%, E.faecalis 4.71%, P.aeruginosa 2.27%, K. oxytoca (1,89%), C. koseri (1,48%) y M. morganii (1,05%).

0-5 años: E. coli (59,10%), P. mirabilis (15,32%), K. pneumoniae (8,11%), E. faecalis (8,11%), P. aeruginosa (3,24%), E. cloacae (1,80%), K. oxytoca (1,80%), M. morganii (1,44%) y C. koseri (1,08%).

El porcentaje de sensibilidad antibiótica respecto a las dos franjas de edad es como sigue:

Ampicilina: 37.61% de 0-5 años y 28.41% superior a 65 años.

Amoxicilina/clavulánico: 75.43% de 0-5 años y 76.77% superior a 65 años.

Ciprofloxacino: 93.48% de 0-5 años y 59.09% superior a 65 años.

Cefuroxima: 100% de 0-5 años y 75.18% superior a 65 años.

Fosfomicina: 96.28% de 0-5 años y 86.88% superior a 65 años.

### Conclusión:

En el grupo de edad de 0-5 años, el mayor porcentaje de sensibilidad se encuentra en la CEFUROXIMA, que es la primera recomendación para el tratamiento de ITU en esta franja de edad, dentro de nuestra área de salud.

Con respecto al grupo de edad superior a 65 años, el mayor porcentaje de sensibilidad aparece en la FOSFOMICINA, recientemente incluida como primera opción terapéutica para el tratamiento empírico de la ITU en dicho grupo de edad.

Podemos concluir que el estudio de la sensibilidad a antimicrobianos en el área de influencia es de gran importancia para adecuar los tratamientos empíricos de las ITU.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 093

### VIRUS RESPIRATORIO SINCITAL, CAUSA MAS HABITUAL DE INFECCION AGUDA Y GRAVE EN LACTANTES Y NIÑOS PEQUEÑOS

Autor/a/s: Carreras Fernández M.Carmen, Martínez Cameo Nieves Felisa, Egido Lizán Pilar, Ruiz Aliende Sonia, Pereira Boan Javier, Omeñaca Teres Manuel, Revillo Pinilla M José

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO MIGUEL SERVET.SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA. Localidad: ZARAGOZA

Correo electrónico del primer firmante: mccarreras.ias@aragon.es

#### Introducción:

El Virus Respiratorio Sincital (VRS), es un virus perteneciente a la familia Paramyxoviridae y subfamilia Pneumoviridae a la que también pertenece el Metapneumovirus Humano, un virus de reciente descubrimiento. Existen dos subgrupos A y B, con diferentes grados de virulencia. Es un virus ARN monocatenario y de polaridad negativa que se aisló por primera vez de un chimpancé en 1956 que presentaba un cuadro respiratorio con estornudos, tos y alta producción de moco. Es la causa más habitual de infección aguda y grave de las vías respiratorias en lactantes y niños pequeños.

#### Objetivos:

Nuestro objetivo es evaluar la frecuencia de infección por VRS durante el año 2012 en nuestro medio, ver el promedio de edad y sexo de los niños afectados y conocer la distribución estacional que presenta.

#### Material y Métodos:

Se estudian 1410 aspirados nasofaríngeos pertenecientes a niños con patología respiratoria, ingresados en el Hospital Miguel Servet de Zaragoza.

A todos ellos se les realizó detección de antígenos mediante Inmunofluorescencia Directa con anticuerpos monoclonales específicos para virus Gripe A y B(GA,GB), Parainfluenza(P1,P2,P3), Adenovirus(AD), Respiratorio Sincital(VRS) y Metapneumovirus(MPVh). Se consideraron no válidos para su determinación aquellos aspirados con un recuento inferior a 20 células epiteliales en la preparación.

#### Resultados:

Del total de muestras estudiadas, en 451 casos fue posible identificar la presencia de virus. De las 451 muestras positivas, 298 fueron para Virus Respiratorio Sincital (66%), seguido del virus de la gripe A con 49 casos detectados(11%). Los porcentajes de todas las detecciones se detallan en la siguiente tabla:

VIRUS RESPIRATORIOS	%	CASOS
NEGATIVOS	64.6	911
VRS	21.1	298
GRIPE A	3.5	49
GRIPE B	0.2	3
PARAINFLUENZA 1	0	0
PARAINFLUENZA 2	0.3	4
PARAINFLUENZA 3	2.5	35
METAPNEUMOVIRUS	2.4	34
ADENOVIRUS	2.0	28
NO VALIDOS	3.4	48

El promedio de edad de los niños infectados por Virus Respiratorio Sincital fue de 11.8 meses.

También se pudo determinar la mayor incidencia de infección en Hombres con un 57% frente al 43% de infección en mujeres

Según el estudio realizado de los casos positivos para VRS, observamos una distribución estacional (otoño-invierno) con predominio de los meses de diciembre con un 41.28% y enero con un 27 %.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 095

### ASLAMIENOS REALIZADOS EN EXUDADOS DE HERIDA EN EL HCU "VIRGEN DE LA VICTORIA" EN EL AÑO 2012.

Autor/a/s: Manuel Gonzalez Rosa; María Rosa Alcaraz Martínez, Angela Guerrero Crespo.

Centro de trabajo: HCU "Virgen de la Victoria". Localidad: Málaga

Correo electrónico del primer firmante: rosae00@telefonica.net

#### Introducción:

Las infecciones de piel y tejidos blandos son junto con las infecciones de las vías respiratorias, las infecciones más frecuentes en clínica humana. Estas infecciones pueden estar producidas por una amplia variedad de microorganismos que forman parte de la microbiota de la piel y de las mucosas, y también proceden del medio ambiente. Tradicionalmente, se consideran potencialmente patógenos a los *Streptococcus* beta-hemolíticos, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp, *Pseudomonas aeruginosa* y otros bacilos gramnegativos como las enterobacterias.

#### Objetivos:

Descripción de los microorganismos más frecuentes aislados en exudados de herida durante el período de un año en nuestro hospital.

#### Material y Métodos:

Se estudiaron 2083 aislamientos de exudados de herida. Las muestras se procesaron en los medios de cultivo (agar sangre, agar MacConkey, agar Sabouraud, agar Brucella), y en el caldo tioglicolato y posteriormente se realizó la extensión sobre porta para tinción de gram. Para la identificación bacteriana utilizamos el sistema automatizado MicroScan WalkAway (Siemens®) y en el estudio de levaduras usamos el medio cromogénico CHROMAGAR CANDIDA (Becton Dickinson®).

#### Resultados:

Durante el 2012 se procesaron 2653 muestras de exudados de herida, de las cuales fueron positivas 2083. Se aislaron: 24,5% *Staphylococcus aureus*, 22,8% Enterobacterias (siendo el más frecuente *Escherichia coli* en 33,5%), 15,2% *Pseudomonas aeruginosa*, 8,3% *Enterococcus* spp. (*E. faecalis* en 71,2%), 3,7% *Candida* spp y 2% *Streptococcus* Beta-hemolíticos. En 66 muestras (8%) se aislaron conjuntamente *S. aureus* y *P. aeruginosa*.

#### Conclusiones:

El microorganismo más frecuente aislado (aproximadamente un 25%), fue el *Staphylococcus aureus*; siendo la principal causa de infección, en los exudados de herida de nuestro hospital, seguido del grupo Enterobacteriaceae.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 097

### IMPORTANCIA DEL AISLAMIENTO DE LA LEGIONELLA ANTE UN POSIBLE BROTE EPIDEMIOLÓGICO.

Autor/a/s: Paz Paz, María Angeles; Lezcano Lanza, Nuria; Gonzalez Carballo, Eva; Piñarré Aranda, Sheila.

Centro de trabajo: LABORATORI ICS CAMP DE TARRAGONA. Localidad: TARRAGONA

Correo electrónico del primer firmante: mapazpaz@hotmail.es

#### Introducción:

La infección por *Legionella* es una enfermedad de declaración epidemiológica obligatoria. Los casos y brotes son vigilados por las comunidades autónomas y notificados a los Servicios Regionales de Vigilancia Epidemiológica.

Los síntomas de la infección por *Legionella* pueden ser similares a otros tipos de neumonía. La evolución clínica de los pacientes con la enfermedad del legionario depende del diagnóstico rápido y del comienzo temprano del tratamiento con antibióticos.



El diagnóstico de la enfermedad mediante un análisis de antígenos en orina es rápido y sencillo y permite la detección y el tratamiento temprano. Este análisis detecta la infección por *Legionella pneumophila* serogrupo 1. Es imprescindible el envío de muestras respiratorias por si fuera necesario la realización de estudios de tipado en el caso que se declarase un brote.

#### Objetivo:

Nivel de cumplimiento en el envío de los análisis complementarios para el aislamiento y posterior tipado de la *Legionella*.

#### Metodología:

Estudio realizado a partir de los registros informáticos del área del laboratorio de urgencias y microbiología, del Laboratori Clínic del Camp de Tarragona en el período comprendido desde Enero a Diciembre del 2009-2012. La detección de antígeno en orina se realizó mediante la técnica de Inmunoanálisis cromatográfico. SD BIOLINE *Legionella* Ag.

#### Resultados:

Durante los años de estudio 2009-2012, se obtuvieron 43 casos Positivos de los cuales se enviaron muestras respiratorias en un total de 5 (12%). De estos cinco casos se obtuvo crecimiento de *Legionella* en dos de ellos (40%). Las otras tres muestras de las que no se obtuvo crecimiento, fueron enviadas al Laboratorio de Referencia para estudios moleculares.

#### Conclusión:

Muy bajo cumplimiento en el envío de las muestras respiratorias para la realización de estudios de tipado, que permitirían la identificación en cada caso de la cepa de *Legionella* causante de la enfermedad. De esta forma se podría detectar el origen ambiental contaminado del que procede y evitar una posible diseminación en la sociedad. Debemos de insistir por lo tanto en la importancia del envío de estas muestras.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 104**

### ESTUDIO DE LA RELACIÓN ENTRE LA EXPRESIÓN DEL GEN OQXA Y LA SENSIBILIDAD A QUINOLONAS EN *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* MEDIANTE RT-PCR.

*Autor/a/s: CABALLERO MOYANO, FRANCISCO JAVIER; DÍAZ DE ALBA, PAULA MARÍA; SERRANO ROCHA, LARA; ORTIZ ARIZA, ESTEFANÍA.*

*Centro de trabajo: DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE SEVILLA.*

*Correo electrónico del primer firmante: caballero\_moyano86@hotmail.com*

#### Introducción:

Las quinolonas es uno de los grupos de antimicrobianos de mayor uso en clínica. La resistencia a quinolonas se debe principalmente a mecanismos cromosómicos. En los últimos años se han descrito diversos mecanismos de resistencia a quinolonas mediada por genes localizados en elementos de transferencia horizontal como son los plásmidos, con las consecuentes repercusiones epidemiológicas. OqxAB-TolC se ha descrito como un sistema de expulsión que confiere resistencia a quinolonas codificado por genes de localización plasmídica en enterobacterias. Con posterioridad se ha puesto en evidencia que esta misma bomba puede formar parte del cromosoma de la especie *K. pneumoniae*. Actualmente se desconoce el papel que la presencia de este sistema de expulsión activa y si sus niveles de expresión pueden correlacionarse con la resistencia a quinolonas en este importante patógeno nosocomial.

#### Objetivos:

Co-relacionar la sensibilidad o resistencia a quinolonas con los niveles de expresión del gen OQXA mediante ensayos de RT-PCR cuantitativa a partir de muestras de ARN.

#### Material y métodos:

Mediante RT-PCR cuantitativa se estudia la expresión de genes a partir de una extracción de ARN. Para el estudio de OQXA se han seleccionado cepas con diferentes valores de sensibilidad a ciprofloxacino de tal forma podamos correlacionar el valor del halo de inhibición con la mayor o menor expresión de OQXA.

Se seleccionaron 18 cepas clínicas, 4 cepas eran sensibles, 2 tenían una sensibilidad intermedia y 12 tenían sensibilidad reducida a ciprofloxacino. Se incluyó como

controles las cepas de referencia de *Klebsiella pneumoniae*: ATCC 700603 que sobreexpresa OQXA y ATCC 27799 que no lo expresa.

Se realizó una extracción de ARN mediante columnas con el kit RNeasy® Mini Kit de QIAGEN. Mediante RT-PCR sintetizamos ADN complementario (cDNA) a partir de ARN mensajero. La transcriptasa inversa (enzima RT) inicia la síntesis de ADN desde el 3' del cebador aleatorio (random primer) utilizando la secuencia de ARN como molde. Los cebadores aleatorios son los adecuados para la síntesis de grandes reservas de cDNA porque van reconociendo dianas durante todo el ARNm. El kit utilizado por la RT fue Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit® de Roche. Una vez obtenido el cDNA, se realiza una PCR cuantitativa a tiempo real utilizando la mezcla maestra LightCycler® FastStart DNA Master<sup>PLUS</sup> SYBR Green I.

Para obtener la cuantificación relativa se compara el resultado de la PCR OQXA frente al gen control RPOB y frente a la ATCC 27799 que no expresa OQXA. Con estos resultados, y tomando la ATCC como 1, obtenemos la expresión de OQXA (Método:  $2^{-\Delta\Delta CT}$ )

#### Resultados:

Cepas	Cuantificación relativa	Halo de inhibición a Ciprofloxacino	Cepas	Cuantificación relativa	Halo de inhibición a Ciprofloxacino
Kpn 27799	1	35	Kpn 45/42	2,0139111	31
Kpn 7/16	0,77916458	35	Kpn 24/04	0,96593633	27
Kpn 8/14	1,81503831	36	Kpn 6/11	1,4240502	R
Kpn 20/18	7,16020057	24	Kpn 6/15	9,44794129	R
Kpn 24/41	0,89502507	35	Kpn 6/16	4,28709385	9
Kpn 25/55	10,4107348	21	Kpn 7/04	3,97236998	9
Kpn 39/18	4,0840485	30	Kpn 11/06	14,7230024	9
Kpn 45/28	2,08493152	29	Kpn 49/01	19,5622444	9
Kpn 7/16	0,77916458	35	Kpn 27/20	5,42641731	9
Kpn 43/12	1,07922824	25	Kpn 700603	21,1121266	25

#### Conclusiones:

En general, cuando encontramos alta expresión relativa de OQXA, hay una sensibilidad disminuida a ciprofloxacino.

Podemos encontrar casos de baja expresión relativa de OQXA y una sensibilidad disminuida a ciprofloxacino debido a que pueden intervenir otros factores como otras bombas de expulsión, genes que confieren resistencia, etc.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 105**

### OBTECIÓN IN VITRO DE *ACINETOBACTER BAUMANNII* CON RESISTENCIA FENOTÍPICA ESTABLE A BIOCIDAS

*Autor/a/s: CABALLERO MOYANO, FRANCISCO JAVIER; DÍAZ DE ALBA, PAULA MARÍA; SERRANO ROCHA, LARA; ORTIZ ARIZA, ESTEFANÍA.*

*Centro de trabajo: DPTO. DE MICROBIOLOGÍA, FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE SEVILLA.*

*Correo electrónico del primer firmante: caballero\_moyano86@hotmail.com*

#### Introducción:

*Acinetobacter baumannii* es un patógeno nosocomial que se caracteriza por su facilidad para adquirir resistencia a múltiples antimicrobianos de uso terapéutico y por su capacidad para diseminarse en el ambiente hospitalario produciendo brotes.

Los biocidas son agentes químicos de diversa naturaleza con actividad antimicrobiana. Los biocidas usados normalmente en los hospitales tienen actividad antiséptica y/o desinfectante. La adquisición de resistencia o tolerancia a biocidas podría facilitar la persistencia de este microorganismo en el medio hospitalario.

#### Objetivos:

Obtener cepas de *A. baumannii* con mayor resistencia fenotípica a biocidas que sus cepas parentales (aislados clínicos) para determinar si estas cepas obtenidas in-vitro son tolerantes (igual sensibilidad que la cepa parental) o son mutantes estables (más resistentes que las cepas parentales).

## Material y métodos:

Se utilizó una cepa control (*Escherichia coli* ATCC 25922) y 2 cepas clínicas, que se seleccionaron de un estudio multicéntrico nacional (Ab GEIH-REIPI 2010) en función de su clonalidad y resistencia a meropenem. Los biocidas que se utilizaron fueron Clorexidina, Cloruro de Benzalconio e Irgasán. Para cada cepa y biocida se prepararon 5 tubos con 5 mL de Mueller-Hinton caldo con el correspondiente biocida a distintas concentraciones (4, 2, 1,  $\frac{1}{2}$  y  $\frac{1}{4}$  veces la Dilución Máxima Inhibitoria; DMI). En el primer pase, cada tubo se inoculó con 100  $\mu$ L de una suspensión bacteriana con un 0.5 McFarland. En los posteriores subcultivos, se concentraron las bacterias de los tubos con crecimiento en  $\frac{1}{4}$  la DMI del correspondiente biocida eliminando el sobrenadante y resuspendiendo con 700-800  $\mu$ L de solución salina y se añadieron 100  $\mu$ L del concentrado a los tubos. La concentración de los rangos se va incrementando según vaya aumentando la DMI. Este proceso se realizó cada 48 horas durante la primera semana y una vez la segunda, tercera y cuarta semana. Se incubó durante 30 días. Una vez terminado este periodo, de aquellos tubos en los que hubo un aumento de la DMI de al menos 2 diluciones respecto a la cepa parental, se realizaron subcultivos en agar Mueller-Hinton con el correspondiente biocida a concentraciones de 4, 2, 1,  $\frac{1}{2}$  y  $\frac{1}{4}$  veces la DMI. Tras 48 horas de incubación se seleccionaron varias colonias y se determinó la estabilidad de la DMI mediante subcultivos sucesivos en agar Mueller-Hinton sin biocida. Al final del proceso se determinó la DMI de la cepa parental y las colonias con fenotipo resistente mediante microdilución en caldo, siguiendo las recomendaciones del CLSI.

## Resultados:

- De las cepas de *A. baumannii* se obtuvieron colonias derivadas con mayor resistencia a los tres biocidas estudiados que sus cepas parentales.
- Con clorhexidina y cloruro de benzalconio se obtuvieron colonias con 2 diluciones de diferencia en la DMI respecto a la cepa parental, mientras que con Irgasan se obtuvieron colonias con 3 o más diluciones de diferencia respecto a la cepa parental.
- Las DMIs de las colonias seleccionadas por exposición con los 3 biocidas se mantuvieron estables (ninguna o 1 dilución de diferencia respecto a su cepa parental) después de los pases en agar Mueller-Hinton sin biocida.

## Conclusiones:

1. In vitro es posible obtener colonias de *A. baumannii* con fenotipo resistente a clorhexidina, cloruro de benzalconio e irgasán, por lo que cabría esperar que la adquisición de resistencia a biocidas en el ambiente hospitalario favorezca la diseminación y persistencia de *A. baumannii*.
2. Este fenotipo de resistencia a biocidas es estable, lo que sugiere que podrían tratarse de mutantes estables, posiblemente con algún mecanismo de resistencia a biocidas, más que de subpoblaciones tolerantes a biocidas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 106

### TENDENCIAS EN LA PREVALENCIA ANUAL DE ESCHERICHIA COLI PERTENECIENTE AL CLON O25B/ST131 DURANTE UN PERIODO DE 6 AÑOS EN EL SUR DE ESPAÑA.

Autor/a/s: CABALLERO MOYANO, FRANCISCO JAVIER; SERRANO ROCHA, LARA; DÍAZ DE ALBA, PAULA MARÍA; ORTIZ ARIZA, ESTEFANÍA.

Centro de trabajo: DPTO. DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE SEVILLA.

Correo electrónico del primer firmante: caballero\_moyano86@hotmail.com

## Introducción:

Recientemente ha emergido internacionalmente un complejo clonal de *Escherichia coli* perteneciente al secuenciotipo (ST) 131 y productor de CTX-M-15, así como de otras betalactamasas de espectro extendido (BLEEs) y enzimas tipo AmpC plasmídicas (p-AmpC). En nuestra área sanitaria también se han detectado aislados de este clon sensibles a cefalosporinas de tercera generación. Se desconoce la evolución anual de su prevalencia y no se conocen estudios longitudinales.

## Objetivos:

El objetivo de este estudio fue analizar la prevalencia de aislados de este clon en una colección prospectiva sistemática de aislados clínicos de *E. coli* recuperados entre 2005 y 2010.

## Metódos:

Entre 2005-2009, se guardaron los 25 primeros aislados de *E. coli* consecutivos cada año (recuperados entre enero-febrero). Se seleccionó un aislado por paciente. El despistaje de este clon se realizó mediante PCR con cebadores específicos para el serogrupo O25b, el alelo 3 del gen pabB y una PCR multiplex para determinar el filogrupo B2. La relación clonal entre los aislados se determinó mediante electroforesis en campo pulsado con la enzima XbaI. El perfil de sensibilidad se estudió con paneles MicroScan. El despistaje de BLEEs se llevó a cabo usando el método de doble disco en agar Mueller Hinton y en este mismo medio suplementado con 200 mg/l de cloxacilina. Se determinó el tipo de BLEE mediante PCR con cebadores específicos para cada grupo.

## Resultados:

Se analizaron un total de 506 aislados de *E. coli* durante el periodo de estudio (125 de 2005-09 y 381 de 2010) y 157 fueron positivos para O25b/pabB3/B2 (13,2%). La prevalencia anual de *E. coli* ST131 fue 3,7% en 2005, 14,8% en 2006, 8,3% en 2007, 12% en 2008, 11,5% en 2009 y 14,5% en 2010. Tres aislados O25b/pabB3/B2 positivos (5,5%) fueron productores de CTX-M-1 y se recuperaron en 2010, el resto fueron no productores de BLEE o p-AmpC. Los aislados O25b/pabB3/B2 positivos mostraron 75% de similaridad por electroforesis en campo pulsado. En el análisis de los patrones de resistencia se encontró que los aislados ST131 eran significativamente más resistentes a gentamicina, tobramicina y quinolonas ( $p < 0,05$ ).

## Conclusiones:

Los hallazgos de este trabajo sugieren que O25b/ST131 emergió en nuestra área antes de 2005 y se observa un incremento constante a partir de ese momento, llegando a ser uno de los clones prevalentes en los 3 últimos años. Los aislados pertenecientes a este clon y que fueran productores de enzimas del grupo CTX-M-1 se detectaron sólo a partir de 2010.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 107

### ASLAMIENOS DE MICROORGANISMOS INUSUALES EN UROCULTIVOS DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE UN HOSPITAL REGIONAL

Autor/a: INMACULADA CONCEPCIÓN SAMPEDRO DE LA TORRE, CARMEN LIÉBANA MARTOS, M<sup>a</sup> DOLORES VALERA ARCAS, ENCARNACIÓN VALVERDE SÁNCHEZ, JOSÉ GUTIERREZ FERNÁNDEZ

Centro de trabajo: H.U. VIRGEN DE LAS NIEVES. Localidad: GRANADA

Correo electrónico del primer firmante: inmasamp@gmail.com

## Introducción:

Se presentan dos casos de agentes infrecuentes que fueron detectados mediante el empleo de un procedimiento normalizado de trabajo en la unidad de urocultivos del Laboratorio de Microbiología del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada.

## Objetivo:

Poner de manifiesto la presencia de microorganismos inusuales como agentes productores de infección del tracto urinario (ITU).

Caso 1: Recuento significativo en orina de *Aerococcus urinae*.

Se trató de una muestra de orina de micción media procedente de un varón sintomático, con leucocituria y un recuento significativo mediante el analizador Sysmex UF1000i (Roche Diagnostic®) y crecimiento en medio Agar Sangre (Becton Dickinson®) y no en medio cromogénico para bacterias (ORI, BD®), tras 24 horas de incubación. Las colonias fueron puntiformes, alfa-hemolíticas de un color gris-verdoso. Se hizo diagnóstico diferencial con microbiota urogenital normal, mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF, Bruker Daltonics®). Se realizó antibiograma mediante la técnica de difusión en placa con amoxicilina, amoxicilina-ácido clavulánico, fosfomicina, levofloxacino, vancomicina, cefotaxima. El microorganismo fue sensible frente a todos los antimicrobianos testados, salvo fosfomicina y levofloxacino.

Caso 2: Recuento significativo en orina de *Pasteurella bettyae*.

Se trató de una muestra de orina de micción media procedente de un varón sintomático, con leucocituria y un recuento significativo, mediante el analizador Sysmex UF1000i (Roche Diagnostic®) y crecimiento en medio cromogénico para bacterias (ORI, Becton Dickinson®) tras 24 horas de incubación. Las colonias fue-

ron puntiformes, de un color azul-verdoso. Se hizo diagnóstico diferencial con microbiota urogenital normal, mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF, Bruker Daltonics®), y API 20 NE (Biomeriëux®). Se realizó antibiograma mediante la técnica disco-placa, con discos de amoxicilina-ácido clavulánico, fosfomicina, cefuroxima y levofloxacina. El microorganismo fue sensible frente a todos los antimicrobianos testados.

#### Conclusiones:

Nuestro procedimiento normalizado de trabajo fue capaz de detectar el crecimiento de microorganismos inusuales en orinas.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 108**

### **DISTRIBUCIÓN DE SEROTIPOS Y SENSIBILIDAD FRENTE A ANTIMICROBIANOS DE STREPTOCOCCUS AGALACTIAE (EGB) EN MUJERES POSTMENOPAÚSICAS Y GESTANTES.**

*Autor/a: INMACULADA CONCEPCIÓN SAMPEDRO DE LA TORRE, CARMEN LIÉBANA MARTOS, ENCARNACIÓN VALVERDE SÁNCHEZ, ELOÍSA MARTÍN LÓPEZ*

*Centro de trabajo: H.U. VIRGEN DE LAS NIEVES. Localidad: GRANADA*

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

#### Introducción:

La mayoría de las infecciones causadas por *Streptococcus agalactiae* (EGB) y no relacionadas con el embarazo ocurren en adultos mayores de 65 años con enfermedades subyacentes. Una de las posibles estrategias para la prevención de enfermedad por EGB sería el desarrollo de una vacuna, sin embargo, una de las principales dificultades que se presentan es la existencia de distintos serotipos que presentan distinta distribución dependiendo de la localización geográfica. Por otra parte determinados serotipos están más relacionados con la enfermedad, de ahí la importancia de realizar estudios epidemiológicos en las distintas poblaciones susceptibles que puedan beneficiarse de la implantación de la vacuna.

#### Objetivo:

Conocer la distribución de serotipos en la población de mujeres postmenopáusicas en el área norte de Granada.

#### Material y Métodos:

Se estudiaron las cepas procedentes de exudados vaginales recibidos en el Laboratorio del Servicio de Microbiología del H.U. Virgen de las Nieves. Las muestras fueron sembradas en medio Granada e incubadas entre 24 y 48 horas en anaerobiosis para identificar el pigmento rojo-anaranjado característico de EGB. La determinación del serotipo se realizó mediante una Multiplex PCR siguiendo el protocolo descrito por Poyart y colaboradores en 2007. La determinación de la sensibilidad frente a antimicrobianos (penicilina, eritromicina y clindamicina) se realizó mediante la técnica de difusión disco-placa en Mueller-Hinton suplementado con un 5% de sangre de carnero siguiendo las recomendaciones del CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).

#### Resultados:

Se aisló EGB en 93 de las muestras de mujeres postmenopáusicas y 188 de gestantes. La distribución de serotipos en la población postmenopáusica fue la siguiente: 22 (23,7%) Ia, 4 (4,3%) Ib, 13 (14%) II, 31 (33,3%) III, 3 (3,2%) IV, 15 (16,1%) V y 5 (5,4%) resultaron no tipables. En las mujeres gestantes la distribución de serotipos fue la siguiente: 42 (22,3%) Ia, 6 (2,7%) Ib, 31 (16,1%) II, 52 (27,7%) III, 8 (4,3%) IV, 34 (18,1%) V, 1 (0,5%) de serotipo VII, 9 (4,8%) de serotipo IX y 5 (3,2%) que resultaron no tipables. En las cepas procedentes de mujeres gestantes se detectó un 16,5% de resistencia a eritromicina y un 10% de resistencia a clindamicina, mientras que en las mujeres postmenopáusicas las tasas de resistencia frente a eritromicina fue de 21 % y de 18% frente a clindamicina. El serotipo en el que se detectó un mayor porcentaje de resistencia fue el V tanto en gestantes como en postmenopáusicas. Todos los aislados resultaron sensibles frente a penicilina.

#### Conclusiones:

Los serotipos más frecuentes en la población postmenopáusica fueron el III, el V y el Ia como ocurre en las gestantes.

El serotipo que más frecuente se asocia a enfermedad por EGB en la literatura es el III, que es el más prevalente tanto en mujeres gestantes como en postmenopáusicas, mientras que el serotipo asociado con una mayor tasa de resistencia frente a antimicrobianos fue el V.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 110**

### **DESCRIPCIÓN DE UN BROTE CAUSADO POR ACINETOBACTER BAUMANII MULTIRRESISTENTE EN EL COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO DE BADAJOZ.**

*Autor/a/s: Gutiérrez Delgado, María Dolores; Bravo Carmona, María; Ortiz Martín, M<sup>a</sup> Inmaculada; González González Ana Belén; Gaona Álvarez, Cristina y Rodríguez Garrido, Saray.*

*Centro de trabajo: Hospital Infanta Cristina. Localidad: Badajoz*

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

#### Introducción:

*Acinetobacter Baumanii* es un microorganismo capaz de sobrevivir en condiciones extremas, lo que le convierte en uno de los patógenos nosocomiales más frecuentemente aislado. Su resistencia a un elevado número de antibióticos incrementa la gravedad de la infección y facilita la aparición de brotes hospitalarios de difícil erradicación.

#### Objetivo:

El objetivo de nuestro estudio fue describir el brote por *Acinetobacter Baumanii* Multirresistente (ABMR) ocurrido en nuestro hospital entre Marzo y Diciembre del 2012.

#### Material y métodos:

Se realizó un estudio retrospectivo-descriptivo de todos los aislados que resultaron positivos para ABMR en el periodo comprendido entre Marzo y Diciembre de 2012. Las muestras clínicas recibidas se cultivaron en agar chocolate y agar sangre (Biomeriëux), mientras que para los cultivos de vigilancia se utilizó el medio LAM (Leeds *Acinetobacter* Medium). La identificación y el estudio de sensibilidad se realizaron a través de los paneles NC54 del sistema automatizado MicroScan (Dade Behring, Siemens). La sensibilidad a colistina se comprobó mediante tiras de E-test (Biomeriëux). Ante la presencia de colonización/infección por ABMR se aplicaron medidas de aislamiento de contacto y limpieza según el protocolo establecido por el Servicio de Medicina Preventiva de nuestro hospital

#### Resultados:

Se analizaron 368 muestras positivas pertenecientes a 134 pacientes. El 71% fueron hombres, siendo la media de edad 68 años. Las muestras procesadas fueron: exudados de herida, 28%; respiratorio, 44%; urinaria, 17%; hemocultivo, 6%; punta de catéter, 2% y solo en un caso se aisló en LCR, frotis rectal y hematoma abdominal.

Se procesaron 207 cultivos de vigilancia, de los cuales 92 resultaron positivos. El frotis rectal y faríngeo fueron las muestras más frecuentes.

Todas las cepas fueron únicamente sensibles a colistina.

#### Conclusión:

- El *Acinetobacter Baumanii* presenta una gran facilidad de diseminación, afectando a todo el complejo hospitalario y no solo a un único servicio.
- Es importante el control de los brotes para evitar la aparición de resistencias a los antimicrobianos aún eficaces.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 114**

### **IMPORTANCIA DE PARASITOSIS INTESTINALES EN ATENCIÓN PRIMARIA**

*Autor/a/s: Rodríguez Pérez Josefina, Rovirosa Reverte Mònica, Herrero Otero Sonia, Mas Comorera Montserrat, Aguilar Sanchez Merçè, Ventura Pedret Salvador.*

*Centro de trabajo: laboratoris clinic territorial metropolitana sud. Localidad: HOSPITALET DEL LLOBREGAT*

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

#### Objetivo:

Conocer los protozoos enteropatógenos y los helmintos intestinales observados en los exámenes coproparasitológicos en el Laboratori Clínic L'Hospitalet – Atención Primaria de Barcelona en el año 2012.



## Material y métodos:

Estudio observacional retrospectivo realizado en el Laboratori Clínic L'Hospitalet (Institut Català de la Salut), que atiende a una población aproximada de 700.000 habitantes. Se estudiaron 5977 muestras de heces. Los métodos utilizados fueron:

- Examen macroscópico de las heces:

- observación directa para la visualización de parásitos adultos o anillos de los mismos.

- Examen microscópico de las heces:

- Técnica de SAF (acetato sódico-ácido acético-formol) concentración y posterior visualización microscópica del sedimento.
- El protozoo *Blastocystis hominis* se considera positivo en el caso de no encontrar otro enteropatógeno y con presencia abundante ( $\geq 20 \times$  campo).

Se recogieron los datos demográficos de los pacientes así como el recuento de eosinófilos en los casos en que se observaron helmintos (excepto *E. vermicularis*)

## Resultados:

Se analizaron 5977 muestras y se observaron 351 (5,9%) positivos, de los cuales un 77,8% correspondieron a protozoos y un 22,2% a helmintos.

	Nº	%	
PROTOZOOS	273		
<i>Giardia lamblia</i>	201	73,6	
<i>Entamoeba histolytica</i> /dispar	37	13,6	
<i>Blastocystis hominis</i>	34	12,6	
<i>Dientamoeba fragilis</i>	1	0,4	
HELMINTOS	79		EOSINOFILIA (>500/ $\mu$ L)
<i>Hymenolepis nana</i>	13	16,7	5
<i>Enterobius vermicularis</i>	31	39,7	No consta
<i>Trichuris trichiura</i>	6	7,7	2
<i>Taenia</i> spp.	7	8,9	1
<i>Ancylostoma/Necator</i>	3	3,9	3
<i>Strongyloides stercoralis</i>	14	17,9	12
<i>Ascaris lumbricoides</i>	3	3,9	2
<i>Schistosoma mansoni</i>	1	1,2	0

Respecto a la edad, 178 fueron adultos y 173 niños. De los 201 casos de giardiasis, 84 (41,8%) correspondieron a adultos.

Presentaron eosinofilia el 59,5% de los pacientes con helmintosis (excluido *E. vermicularis*)

## Conclusiones:

La parasitosis más frecuente es la giardiasis, destacando la elevada proporción de adultos.

El análisis coproparasitológico es importante en el diagnóstico etiológico de la eosinofilia en población inmigrante.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 116**

## CONFIRMACION DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C MEDIANTE TECNICA DE INNO-LIA

*Autor/a/s: Montero Velasco Olga; Guerra Montaña Amparo; Cabeza Arroyo Victoria*

*Centro de trabajo: (Hospital La Merced. Localidad: Osuna*

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

## Introducción:

El virus de la hepatitis C (VHC) es un agente de transmisión parenteral, habitualmente asintomático que suele acabar en infección crónica. Para su diagnóstico se utilizan técnicas de cribado (electroquimioluminiscencia, enzimoimmunoanálisis) que detectan anticuerpos IgG frente al VHC. Debido a las reacciones cruzadas o inespecíficas de tales técnicas, los resultados positivos se deben someter a pruebas de confirmación.

## Objetivos:

Determinar el punto de corte por debajo del cual se debe confirmar la determinación de anticuerpos IgG frente al VHC por la técnica de cribado.

## Material y métodos:

Se realizó un estudio retrospectivo de cribado de VHC en el A.S.G. Osuna desde Mayo a Diciembre 2012. Se analizaron 1777

muestras por el método de electroquimioluminiscencia (ECLIA) con el reactivo Anti-HCV II (detección cualitativa de anticuerpos) mediante el autoanalizador cobas 601 de Roche Diagnostics. Las muestras positivas fueron posteriormente confirmadas por la técnica de INNO-LIA™ HCV Store (Line immunoassay) INNOGENETICS® (inmunoensayo en tira 3ª generación que incorpora antígenos de VHC derivados de la región principal, de la región hipervariable (RHV) E2, de la región hélice, NS3 y de las regiones NS4A, NS4B y NS5A). Esta técnica emplea unas tiras reactivas recubiertas de antígenos cuya reacción antígeno-anticuerpo se visualiza por colorimetría.

## Resultados:

En 21 sueros de entre las muestras positivas detectadas con la técnica de rutina, se realizó el test confirmatorio de Inmunoanálisis. Los resultados obtenidos fueron 15 muestras que se confirmaron como positivas y 6 como negativas.

Los índices de positividad de la técnica de cribado de estas muestras negativas fueron: 1,4; 2,6; 14,6; 1,72; 1,23 y 4,38.

## Conclusión:

En base a nuestros resultados concluimos que se deben confirmar los sueros con índice de positividad para la técnica de electroquimioluminiscencia de ROCHE por debajo de 15.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 117**

## ANÁLISIS DEL NÚMERO DE PETICIONES DE IDENTIFICACIÓN DE STAPHYLOCCUS AUREUS RESISTENTE A METICILINA (SARM) EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO A CORUÑA

*Autor/a/s: BARBA MIRAMONTES MARIA JOSE; MOLINA POCH, FRANCISCA; GERMAN BOU.*

*Centro de trabajo: Complejo Hospitalario Universitario A Coruña. Localidad: A Coruña*

*Correo electrónico del primer firmante: maria.jose.barba.miramontes@sergas.es*

## Introducción:

Las infecciones nosocomiales han adquirido cada vez una mayor importancia para los hospitales, ya que conlleva a un aumento de la morbi-mortalidad, así como una prolongación de la estancia hospitalaria. *Staphylococcus aureus* es el agente etiológico más frecuentemente identificado como causa de infección nosocomial, particularmente el resistente a meticilina (SARM). Para un adecuado control de dicha infección es muy importante la detección temprana de dicho microorganismo en pacientes hospitalizados, así como su vigilancia posterior. Por eso se decidió la creación de la unidad de Multiresistencias en el Servicio de Microbiología del CHUAC cuya función es la vigilancia de la infección nosocomial.

## Objetivo:

Estudio retrospectivo descriptivo del número de peticiones de identificación/detección de SARM desde la creación de la unidad (2008-2012).

## Material y métodos:

Las muestras biológicas de control de colonización que se procesaron fueron: frotis de piel intacta, nasales y algunas muestras clínicas (orinas y secreciones bronquiales mayoritariamente). Después se sembró en medio selectivo Chromagar MRSA (BD) e incubadas en estufa a 37°C en atmósfera aeróbica. Se realizó una primera lectura a las 24 horas del cultivo; si en las placas no se detectaba crecimiento de microorganismos, se prolongaba la incubación hasta las 48 horas, y se volvía a realizar la lectura de las placas en ese momento. Cualquier crecimiento compatible con MRSA se confirmó mediante la realización de una prueba de coagulasa (aglutinación Slidex Staph Plus (Biomérieux)). A partir del año 2010 se confirmó mediante Espectrometría de Masas de desorción/ionización láser (MALDI-TOF).

Los datos fueron recogidos del S.I.L para su posterior análisis.



## Resultados:

Un resumen de la actividad se muestra en la siguiente tabla:

AÑOS	2008	2009	2010	2011	2012
Nº Peticiones					
Totales*	6339	6930	6781	8530	10042
Nº Peticiones					
SARM	2289	2761	2606	3477	2908
Resultados positivos SARM	712	822	914	1035	892
Resultados negativos SARM	1519	1919	1657	2431	2006
Nº Peticiones					
no procesados	58	20	35	11	10
Nº Pacientes					
Estudiados	270	290	270	452	352

\* Nº peticiones totales de gérmenes multiresistentes: *Pseudomona* multiresistente, *Acinetobacter baumannii*, SARM principalmente.

## Conclusiones:

Se puede observar que el número de peticiones de gérmenes multiresistentes ha aumentado de 6339 a 10042 (2008-2012), lo cual representa un incremento del 58,42%. Así como el número de peticiones de SARM ha aumentado de 2289 a 2908 que significa un incremento del 27.14%.

Las peticiones del número de aislamientos SARM con resultados positivos respecto al número total de peticiones para el aislamiento de SARM varían entre el 29,77% al 31,11%.

Estos datos confirman la importancia clínica del SARM a nivel hospitalario para el control de la infección nosocomial, lo cual exige una constante vigilancia.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 123**

## MALARIA IMPORTADA EN NIÑOS EN LA ISLA DE GRAN CANARIA

*Autor/a/s: INMACULADA ZORIO REYES, ENGRACIA SANCHEZ QUINTANA, FEDERICO JAVIER PARADA SAAVEDRA, DOLORES VELAZQUEZ MIRANDA, ROSA MARIA GUERRA ROGER, CARMEN DUNIA MONTESDEOCA MOLINA. SUPERVISADO POR LA DRA. ROSA ELCUAZ ROMANO.*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DR. NEGRIN LAS PALMAS DE GRAN CANARIA, HOSPITAL MATERNO-INFANTIL LAS PALMAS DE GRAN CANARIA. Localidad: LAS PALMAS DE GRAN CANARIA*

*Correo electrónico del primer firmante: cuca\_zorio@hotmail.com*

## Objetivos:

Canarias constituye una zona donde es frecuente la atención sanitaria a personas procedentes de áreas palúdicas. El objetivo del trabajo es estudiar las características clínico-epidemiológicas de los casos de malaria infantil diagnosticados en nuestro hospital, durante un periodo de 13 años.

## Material y Métodos:

Se realizó un estudio observacional retrospectivo de los casos de malaria confirmados microbiológicamente en niños de edades menores a 14 años, que acudieron al Hospital Materno Infantil de Las Palmas de Gran Canaria desde 1999 hasta 2011. Los métodos diagnósticos empleados fueron microscopia (frotis fino y gota gruesa) y ensayo inmunocromatográfico (BinaxNow Malaria®, Inverness medical); en determinados casos se realizó técnica de amplificación de ADN de *Plasmodium* sp. (PCR multiplex) en el Centro Nacional de Microbiología de Madrid. Se utilizaron los criterios de la OMS del 2010, para valorar los casos de malaria complicada.

## Resultados:

Se diagnosticaron 20 episodios de malaria durante el periodo de estudio en 20 niños (9 varones y 11 mujeres). La edad media fue de 5.5 años en un rango de 1 a 11 años. La especie más común diagnosticada fue *P. falciparum* (18 casos) seguido de *P. vivax* (1 caso) y *P. ovale* (1 caso). La malaria fue adquirida en África en el 100% de los casos, de lugares como: Guinea Ecuatorial (16 casos), Guinea-Bissau, Mauritania, Senegal y Nigeria (1 caso por país). Según los datos clínico-epidemiológicos obtenidos de 19 pacientes, 10 de ellos viajaron a la zona

endémica para visitar a familiares y amigos y otros 9 eran inmigrantes recién llegados. De los 10 niños que viajaron diagnosticados de malaria sólo uno había recibido profilaxis antipalúdica, pero esta fue incompleta. Los síntomas clínicos más frecuentes fueron fiebre (84.2%), síntomas gastrointestinales (78.9%), esplenomegalia (52.6%) y hepatomegalia (36.8%). Las alteraciones hematológicas más frecuentes fueron anemia (66.6%), trombocitopenia (44.4%) y leucopenia (22.2%). Cuatro pacientes (21%) presentaron criterios de malaria complicada: Hiperparacitemia (1), Hemoglobinuria (1), Hiperbilirrubinemia (1), postración que requiere nutrición parenteral (1). Fueron hospitalizados 18 de los 19 pacientes, aunque ninguno requirió ingreso en Unidad de Cuidados Intensivos. Todos los pacientes recibieron tratamiento antipalúdico adecuado; ningún paciente presentó complicaciones posteriores y todos evolucionaron favorablemente sin secuelas.

## Conclusiones:

Los niños diagnosticados de malaria en nuestro hospital procedían en su totalidad de África subsahariana. El país donde principalmente se adquirió fue en Guinea Ecuatorial, el 80% de los casos. La especie más frecuente fue *P. falciparum*, el 90% de los casos. El 21% de los niños presentaron algún criterio de malaria complicada. La evolución fue favorable en todos los casos con tratamiento antipalúdico adecuado. Los niños que vuelan con frecuencia a estos países son un grupo de alto riesgo para contraer malaria y sus padres deben ser advertidos en el ámbito de la atención primaria, para realizar la profilaxis adecuada antes del viaje.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 124**

## INFECCIÓN DEL SNC POR ENTEROVIRUS EN NEONATOS. UTILIDAD DE LAS TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO

*Autor/a/s: ENGRACIA SÁNCHEZ QUINTANA, INMACULADA ZORIO REYES, FRANCISCO JAVIER CHAMIZO LÓPEZ, MARÍA DEL PINO SANTANA MUÑOZ, JUANA ALMEIDA ALMEIDA, ELISABET ACOSTA SÁNCHEZ. SUPERVISADO POR LA DRA. MARÍA JOSÉ PENA LÓPEZ.*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE GRAN CANARIA DR. NEGRIN-HOSPITAL MATERNO-INFANTIL. Localidad: LAS PALMAS DE GRAN CANARIA*

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

## Introducción y Objetivos:

La mayoría de las infecciones por enterovirus (EV) en la población pediátrica son benignas, pero los neonatos tienen mayor riesgo de infecciones graves porque su sistema inmunológico todavía es inmaduro. Los EV son responsables de un amplio espectro de manifestaciones clínicas que van desde un catarro común hasta infecciones graves del sistema nervioso central (SNC) y miocardio. El diagnóstico de la infección del SNC se realiza por diferentes métodos como son el aislamiento en cultivo o la detección de antígenos o ARN específico del virus a partir de muestras de LCR. Debido a que el virus se transmite por vía oral-fecal, se multiplica a nivel faríngeo y se excreta en heces, la detección del virus en muestras de estas localizaciones (respiratorias y heces) puede utilizarse para hacer un diagnóstico presuntivo. Algunos serotipos se han relacionado con infecciones neurológicas más severas en este grupo de población.

El objetivo del estudio fue conocer la incidencia de infecciones del sistema nervioso central producidas por EV en neonatos, la rentabilidad de los diferentes métodos de diagnóstico y la distribución de serotipos encontrados.

## Material y Métodos:

Estudio retrospectivo de los casos de infección neurológica por EV en neonatos (<29 días de edad) diagnosticados en el periodo 2007-2012 en un hospital con 33.064 nacimientos durante ese periodo. Para el diagnóstico de infección neurológica por EV se realizó la detección de ARN específico de EV y/o el cultivo viral a partir del LCR. Para la detección del ARN específico de EV se utilizaron indistintamente diferentes técnicas de amplificación: NucliSenseEasyQ Enterovirus®-Biomerieux (prueba de amplificación basada en la transcripción) Enterovirus R-gene®-Argene (prueba de amplificación en cadena de la polimerasa-PCR en tiempo real) y/o CLART-Enterpex®-Genomica (prueba de PCR convencional múltiple y revelado con sondas en microarrays). El tiempo de realización de las pruebas de amplificación oscila entre las 3 y las 24 horas.

Para el aislamiento viral la muestra de LCR se inoculó en las siguientes líneas celulares: MRC-5 (fibroblastos de pulmón de feto humano), RD (rhabdomyosarcoma) y, si hubo muestra suficiente, en la línea Vero (células de riñón de mono verde africano). Se realizó cultivo convencional en tubo y/o técnica de shell vial (técnica que combina el cultivo con centrifugación acelerando la adherencia y la

penetración del virus en la célula receptora, reduciendo el tiempo de positividad). Además, en los pacientes en que se remitieron muestras de exudado faríngeo y heces, se inocularon en las líneas celulares MRC-5, RD, Vero y HEp-2 (carcinoma epidermoide de laringe humano) por cultivo celular convencional, previa descontaminación de la muestra con una mezcla de antibacterianos y antifúngicos (Penicilina-Gentamicina-Anfotericina B) para evitar el crecimiento de estos agentes en los medios de cultivos celulares. Los cultivos se incubaron a 37°C durante un período de 15 días con lectura diaria.

Ante la presencia de un efecto citopático compatible (cultivo positivo) se realizó la detección específica de antígeno por técnica de inmunofluorescencia indirecta mediante el uso de anticuerpos monoclonales específicos del género enterovirus (Monoclonal Mouse Anti-Enterovirus Clone 5-D8/1-Dako®) y de los serotipos EV 70/71, echovirus (E), coxsackievirus-B (CV-B) y poliovirus. Los echovirus se serotiparon también por IF (E-4, E-6, E-9, E-11, E-30) al igual que los coxsackievirus (C-B3 y C-B5) (Multipore Light Diagnostics®). Cuando se detectó un enterovirus, las muestras y/o los cultivos se remitieron al laboratorio de referencia de enterovirus del Centro Nacional de Microbiología en donde fueron serotipados utilizando métodos clásicos de microneutralización con antisueros de LimBenyesh-Melnick y/o genotipados mediante amplificación parcial y posterior secuenciación de la región VP.

### Resultados:

Se diagnosticaron 28 neonatos (incidencia: 0,85 ‰ recién nacidos vivos), 15 (53,6%) varones y 13 (46,4%) mujeres, 18 (64,3%) menores de 15 días. Todos los neonatos fueron a término con una edad gestacional media de 39,7 semanas.

Los resultados de las pruebas diagnósticas realizadas se muestran en la tabla 1.

	Detección de ARN específico	Cultivo viral LCR	Cultivo viral faríngeo	Cultivo viral heces
Positivo	23	14	6	3
Negativo	1	7	3	9
No realizado	4	7	19	16

La detección de ARN específico se realizó en 24 pacientes, siendo positiva en 23 (95,8%). El cultivo de LCR se realizó en 21 pacientes, siendo positivo en 14 (66,7%) (1 EV, 4 E-30, 5 E-11, y 4 COX-B). Hubo 4 pacientes donde el diagnóstico se realizó por aislamiento en cultivo de LCR y un paciente con diagnóstico presunto por cultivo de heces positivo.

Se pudieron genotipar 20 (71,4%) de los 28 EV detectados, resultando 5 echovirus (E)-11 (25%), 4 E-30 (20%), 4 coxsackievirus (CV)-B4 (20%), 2 CV-B2 (10%), 2 CV-B5 (10%), 2 E-4 (10%), y 1 CV-A9 (5%).

Todos los casos debutaron con fiebre, acompañado de diarrea en 4(14,3%) casos; un niño presentó convulsiones y otro una hemiparesia derecha. Estos dos últimos presentaron infección por CV-B. Cinco pacientes presentaron secuelas, 4 hipoacusia (uno de ellos leve) y una niña presentó hemiparesia derecha. De estos 5 pacientes, en 3 se detectó un CV-B.

### Conclusiones:

La incidencia de infección por enterovirus en neonatos fue baja. Los serotipos predominantes fueron E-11 y CV-B, datos que están en concordancia con estudios previos. Aunque fueron infecciones benignas, las producidas por CV-B tuvieron mayor número de complicaciones. Destacar que no hubo casos en prematuros, en donde estas infecciones podrían ser más graves. La mayoría de los pacientes se diagnosticaron por detección de ARN específico, lo que permitió un mejor manejo de los casos al realizar el diagnóstico en las primeras 24 horas de la obtención de la muestra.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 127

## ESTUDIO DEL GENOTIPO CIRCULANTE DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN EXUDADOS RECTALES EN UN HOSPITAL DE AREA DE SEVILLA DURANTE LOS AÑOS 2011 Y 2012.

Autor/a/s: SIERRA ATIENZA, CELESTINA; PARRA-SANCHEZ MANUEL; LOPEZ SANCHEZ, MANUEL; BERNAL MARTINEZ, SAMUEL; CABEZAS SERRANO, JOSE LUIS; MARTIN-MAZUELOS, ESTRELLA.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE VALME. Localidad: SEVILLA

Correo electrónico del primer firmante: celestinasierra@hotmail.com

### Introducción:

La detección del ADN mediante técnicas de amplificación de ácidos nucleicos en muestras rectales se considera el método de referencia para el diagnóstico de la infección por el virus del papiloma humano (VPH). Nuestro objetivo fue estudiar si existían cambios en la prevalencia de los genotipos 16, 18 y alto riesgo (AR) de VPH durante los años 2011 y 2012 en nuestra área.

### Material y métodos:

Se incluyeron en el estudio un total de 252 exudados rectales (158 muestras en 2011; 94 en 2012) recogidos en el cobas® PCR Cell Collection media (Roche). La mediana de edad de los pacientes estudiados fue de 37 años (rango: 18-70 años). La detección del VPH fue realizada mediante PCR a tiempo real con el equipo cobas® 4800 (Roche) a partir del tubo primario. Este equipo consta del módulo cobas® X 480 para realizar la extracción de ADN y del módulo cobas® Z 480 donde tiene lugar la amplificación y detección. El kit incluye como control interno la propia b-globina humana que se encuentra en todas las células. Este test permite la detección simultánea y por separado del VPH 16, VPH 18 y VPH alto riesgo en conjunto, que incluyen los siguientes genotipos: 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68.

### Resultados:

Los resultados obtenidos se resumen a continuación:

	AÑO 2011	AÑO 2012
TOTAL CASOS	158	94
NEGATIVAS (%)	50 (31,6)	27 (28,7)
POSITIVAS (%)	108 (68,4)	67 (71,3)
VPH16 (%)	8 (5,1)	10 (10,6)
VPH18 (%)	1 (0,6)	1 (1,1)
VPH-AR (%)	62 (39,2)	34 (36,2)
<b>INFECCIONES MIXTAS</b>		
VPH16/VPH-AR (%)	23 (14,6)	10 (10,6)
VPH16/VPH18 (%)	1 (0,6)	0 (0)
VPH18/VPH-AR (%)	5 (3,1)	6 (6,4)
VPH16/VPH18/VPH-AR (%)	8 (5,0)	6 (6,4)
TOTAL (%)*	37 (34,3)	22 (32,9)
*: % sobre muestras positivas.		

### Conclusiones:

1. El porcentaje de VPH positivos en 2012 con respecto al 2011 ha aumentado un 2,9%. El VPH16 aumentó en el 2012 un 5,5% y el VPH 18 aumentó un 0,5%, sin embargo el VPH-AR descendió un 3%.
2. Las infecciones mixtas en las muestras positivas del año 2012 disminuyeron un 1,4 % con respecto al anterior.
3. La prevalencia de VPH16 y/o VPH18 aumentó un 6,1 % en relación al 2011.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 131

## INFECCIÓN CRÓNICA POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS B EN EMBARAZADAS DEL ESTE ASIÁTICO

Autor/a/s: Moreno Martínez Remedios, Castro González Elisabeth, Arroyo Montiel Belen, Barroso Portillo María del Carmen, Allende Monclús Blanca, Dopico Ponte Eva

Centro de trabajo: Laboratori Clínic Territorial Metropolitana Sud Laboratori Clínic L'Hospitalet. Localidad: L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona)

Correo electrónico del primer firmante: remmartinez@hotmail.com

### Introducción:

Según las estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) hay alrededor 400 millones de personas infectadas en el mundo por el virus de la Hepatitis B (VHB), un tercio de los cuales se encuentran en China, donde aproximadamente el 9% de la población es portadora crónica del virus.

## Objetivo:

Conocer la prevalencia de la infección crónica por el virus de la hepatitis B en las embarazadas originarias del Este Asiático residentes en el Baix Llobregat (Barcelona), así como los diferentes patrones serológicos.

## Material y métodos:

Estudio transversal de marcadores serológicos del virus de la hepatitis B realizado en el Laboratori Clínic de L'Hospitalet (Barcelona) del Institut Català de la Salut, de las mujeres embarazadas chinas que acudieron a las consultas de los centros de Atención a la Salud Sexual y Reproductiva (ASSIR), entre julio y diciembre del 2012. Se realizaron las determinaciones de antígeno de superficie del virus de la Hepatitis B (Ag HBs) del anticuerpo anti-core (Ac HB core), el antígeno e (AgHBe) y el anticuerpo e (anti-HBe) mediante un inmunoensayo de quimioluminiscencia (Vitros®Johnson & Johnson) y la cuantificación del DNA viral por PCR a tiempo real (Abbott RealTime HBV DNA®). Se valoró la presencia de Ac HB core como marcador de contacto previo con el virus. La fase de inmunotolerancia fue definida por presencia de AgHBe, carga viral  $>10^6$  UI/mL y niveles de alanina aminotransferasa (ALT) normales ( $<40$  UI/mL).

## Resultados:

Se incluyeron en el estudio 62 gestantes. Los resultados se exponen en la tabla:

PATRONES SEROLOGICOS DE HEPATITIS B	Nº (%)
<b>Infección crónica :AgHBs (+)</b>	4 (6.5)
Portador crónico inactivo :Ag HB e (-), DNA $<10^5$ , ALT normal	2
Fase inmunotolerante :Ag HB e (+), DNA $>10^6$ , ALT normal	2
<b>Infección pasada: AgHBs (-), Ac HB core (+)</b>	26 (41.9)
<b>Ausencia de exposición: Ac HB core (-)</b>	32 (51.6)
	<b>62</b>

## Conclusiones:

Los resultados de nuestro estudio muestran una prevalencia elevada de marcadores de infección pasada (41.9%), y moderada de infección crónica (6.5%), destacando que la mitad de las infectadas están en fase de inmunotolerancia, caracterizada por una elevada concentración de virus en sangre.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 132

### PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR HELICOBACTER PYLORI EN MENORES DE 6 AÑOS EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO NUESTRA SEÑORA DE CANDELARIA EN EL TRIENIO 2010 - 2012

Autor/a/s: TORRES DÍAZ Javier Lázaro, LARA PÉREZ Magdalena, HENÁNDEZ FEBLES Melisa, SÁNCHEZ FLÓREZ María Reyes, GASPAS GASPAS María del Pilar, PÉREZ FARINAS Roberto, MANRÍQUE IZQUIERDO Teodora, MANRÍQUE IZQUIERDO Heriberto, PÉREZ MÉNDEZ Lina, MORALES DE ARMAS, EULALIA LAURA.

Centro de trabajo: HUNSC-Análisis Clínico-Unidad de investigación. Localidad: S/C. de Tenerife

Correo electrónico del primer firmante: javierlazarotenerife@gmail.com

## Introducción:

*Helicobacter pylori* (H. pylori) es un bacilo gram negativo, helicoidal, microaerófilo, catalasa y oxidasa positivo. La infección por H. pylori tiene una fuerte correlación con enfermedades gastrointestinales (gastritis, úlcera gástrica y duodenal y cáncer gástrico). Los pacientes infectados pueden beneficiarse, si procede, de su tratamiento de erradicación, evitando el desarrollo de úlceras duodenales o gástricas y cáncer en el estómago en la edad adulta. H. pylori puede aislarse a partir del cultivo de biopsias gástricas, tras métodos invasivos y que no siempre están indicados realizar. Además, su crecimiento es lento y difícil. Existen métodos indirectos (serología), pero aunque en adultos tiene una sensibilidad superior al 90%, en niños menores de 6 años no supera el 60%, lo que limita su aplicación en esas edades como método diagnóstico<sup>1</sup>. Por otro lado, desde el laboratorio de Microbiología, esta bacteria también puede detectarse directamente desde muestras de heces, con una técnica rápida de detección de antígeno.

## Objetivos:

Estimar la prevalencia de la infección por H. pylori en niños menores de 6 años detectados en el Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria en los años 2010, 2011 y 2012, a partir de una técnica de detección de antígeno en muestras

de heces; y conocer si se ha producido un aumento de prevalencia en el período de estudio.

## Material y Métodos:

Durante el trienio 2010-2012, se procesaron un total de 7210 muestras de heces. Se recogieron los datos de edad, sexo y servicio solicitante. De ellas, 758 correspondían a pacientes menores de 6 años. A todos ellos se les realizó un test para la detección del antígeno de H. pylori. La técnica empleada es H.pylori Ag MonolabTest® de Monlab SL. El test es un inmunoensayo cualitativo de flujo lateral para la detección de antígeno de H. pylori en muestras de heces humanas. Según las recomendaciones comerciales, estas pruebas tienen una sensibilidad  $>99\%$  y una especificidad  $>99\%$ . No existen reacciones cruzadas con los patógenos intestinales más frecuentes, otros organismos y sustancias que pueden presentarse en heces. Se estimó la prevalencia global del trienio puntualmente y por Intervalo de Confianza al 95% (IC<sub>95%</sub>). Las prevalencias de cada año del trienio considerado contrastaron con la chi cuadrado con un nivel de significación (error alfa) del 5% para el rechazo de la hipótesis nula.

## Resultados:

Se solicitó la prueba a 758 niños menores de 6 años, con una media de edad de 4 años. 385 (50.8%) eran varones. Se procesaron un total de 681 muestras, debido a que en 77 casos no procedió su realización (problema en proceso preanalítico). La detección de antígeno de H. pylori fue positiva en 70 (10.3%) casos, IC<sub>95%</sub> (9.1%-11.5%), siendo el 51,4%(36) niñas. En dos (0.03%) pacientes, el resultado fue indeterminado, uno de cada sexo. En el año 2010, de los 237 estudiados, un 8% (19) fueron positivos, en el 2011 de 254, un 9,9% (29) y durante el 2012, de 190, un 11% (22). Este aumento de prevalencia a lo largo de estos tres años no es estadísticamente significativo ( $p=0.3565$ ). La mayoría (75.2%) de las pruebas fueron solicitadas desde Atención Primaria Pediátrica seguidos de Consultas Especializadas en Gastroenterología pediátrica (5.5%).

## Conclusión:

La prevalencia de infección presuntiva por H. pylori fue de 10.3%, sin diferencias entre niños y niñas. No se observa un aumento significativo de detecciones a lo largo del período de estudio. El test únicamente da resultados cualitativos (positivo, negativo o indeterminado), y proporciona un diagnóstico presuntivo de infección por H.pylori en muestras de heces. Sin embargo, para el diagnóstico definitivo de la enfermedad por H. pylori es necesario complementar el estudio con datos clínicos del paciente y/o otras pruebas de laboratorio.

<sup>1</sup> Infección por *Helicobacter pylori* en niños. MJ Martínez, M Perdomo. Asociación Española de Pediatría. Sociedad Española de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica. 2ª Ed. 2010.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 137

### EPIDEMIOLOGIA DE LAS RESISTENCIAS A ANTIVÍRICOS DEL VIH EN EL ÁREA DE SALUD DE SALAMANCA.

Autor/a/s: ROSA MARÍA GARCÍA CAMAZANO, MARÍA TERESA CUADRADO BENITO, MARÍA PRESENTACIÓN MARTÍN MUÑOZ, PAULA GARCÍA GÓMEZ.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA. Localidad: SALAMANCA

Correo electrónico del primer firmante: rgcamazano@gmail.com

## Introducción:

En la actualidad se calcula que en España existen alrededor de 150.000 personas infectadas por el VIH. Afortunadamente el número de nuevas infecciones ha bajado, pero la generalización de los tratamientos antirretrovirales de alta eficacia, TARV, ha hecho que la atención asistencial que precisan estos pacientes haya aumentado y que sea esencial el control de la aparición de mutaciones asociadas a resistencia a antivíricos en los genes codificadores de la transcriptasa inversa(TI) y de la proteasa del virus. En este estudio se presentan la frecuencia de mutaciones con alta evidencia genética de resistencia en nuestro centro en los tres últimos años.

## Objetivo:

Conocer el porcentaje de pacientes con VIH que presentan resistencias a los fármacos antirretrovirales incluyendo la familia de los ITIANN, los ITIAN y los IP durante un período de tres años.



## Material y Métodos:

Se trata de un estudio retrospectivo desde Enero de 2010 a Diciembre de 2012 en el que se determinó mediante transcripción reversa y PCR secuenciación (Trugene HIV-1 Genotyping Assay Siemens Healthcare Alemania) la presencia de mutaciones asociadas a resistencia a antirretrovirales en 150 pacientes VIH+.

## Resultados:

De los 150 pacientes a los que se les realizó el estudio, se detectaron mutaciones con alta evidencia genética de resistencia en 28 de ellos (18,66%) los cuales tenían cargas víricas muy variables en el momento del estudio. El 46,43% de los pacientes tuvieron mutaciones para una sola de las familias de antirretrovirales. De estos, el grupo de mutaciones más frecuente fue frente a inhibidores de la TI no análogos a nucleósidos (ITIANN) (8 pacientes, 28,57%). Este grupo fue seguido de los inhibidores de la TI análogos a nucleósidos (ITIAN) con 3 casos (10,71%) y por último los inhibidores de la proteasa (IP) con 2 pacientes (7,14%).

El 42,86% de los pacientes presentaron resistencias a dos familias de antirretrovirales. La combinación más frecuente fue ITIAN+ITIANN (7 pacientes, el 25%) seguida de ITIAN+ IP (3 pacientes 10,71%) y por último la combinación ITIANN+IP (2 pacientes 7,14%).

Es importante destacar que hubo 3 pacientes (10,71%) que presentaron resistencia a las tres familias de fármacos antirretrovirales.

## Conclusiones:

Los fármacos más afectados en nuestro medio son los inhibidores la transcriptasa inversa no análogos de nucleosidos. La proporción de resistencia a los inhibidores de la proteasa es aún baja. Las mutaciones asociadas a alto nivel de resistencia genética tras el tratamiento, obliga a la realización de técnicas genotípicas de detección de resistencias en la práctica asistencial.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 138**

### FIABILIDAD DE LA IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS ANAEROBIAS MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE MASAS MALDI-TOF Y MEDIANTE MÉTODOS BIOQUÍMICOS CONVENCIONALES (API 20-A).

*Autor/a/s: ROSA MARÍA GARCÍA CAMAZANO, MARÍA TERESA CUADRADO BENITO, MARÍA PRESENTACIÓN MARTÍN MUÑOZ, XIOMARA MARÍA CONCEJO IZQUIERDO.*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA. Localidad: SALAMANCA*

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

## Introducción:

La espectrometría de masas (EM) MALDI-TOF, basada en la identificación de perfiles de proteínas específicos de especie, se ha convertido en un método de identificación de referencia en bacteriología y micología. No obstante, algunos grupos de microorganismos, como las bacterias anaerobias, muestran mayores discordancias entre la identificación rutinaria, basada en métodos bioquímicos, y la EM MALDI-TOF. Sin embargo, esto puede ser debido a errores en la identificación derivada de la EM MALDI-TOF, o a una identificación incorrecta por parte de los métodos bioquímicos tradicionales. El presente estudio pretende determinar, mediante identificación basada en la secuenciación del ARN 16S, la frecuencia de error de una y otra técnica en aquellos casos en que se producen discrepancias.

## Objetivo:

Determinar la identificación correcta, mediante secuenciación del RNA 16S, en aislamientos clínicos de bacterias anaerobias en los que se observaron discrepancias entre la identificación bioquímica convencional y la identificación por EM MALDI-TOF.

## Material y Métodos:

Se han identificado 126 aislamientos clínicos de bacterias anaerobias mediante el sistema API 20 A (bioMérieux, Marcy l'Étoile, Francia), y mediante EM MALDI-TOF (Bruker Daltonics, Alemania)

Las identificaciones mediante EM MALDI-TOF se consideraron fiables a nivel de especie con una puntuación >2, fiables a nivel de género con una puntuación entre 1,7 y 2, y no fiables con una puntuación < 1,7. Cuando no existió correlación entre la identificación bioquímica y la obtenida por MALDI-TOF, o éste último no ofreció identificación fiable, se corroboró mediante secuenciación de ARNr 16S.

## Resultados:

Se observó correlación a nivel de especie en 78 aislamientos (60,9%). Se observaron discrepancias en 19 aislamientos de *Bacteroides fragilis* (id. bioquímica), 7 aislamientos de otras especies de *Bacteroides*, 10 de *Porphyromonas asaccharolytica*, 9 de *Prevotella*, 1 *Parabacteroides*, 1 *Fusobacterium* y 1 *Eggerthella*. La secuenciación de RNA 16S corroboró la identificación mediante EM MALDI-TOF en 32 casos (66,7%) a nivel de especie, y en 8 casos a nivel de género (16,7%). Por el contrario, sólo corroboró las identificaciones a nivel de especie obtenida mediante métodos bioquímicos en 2 casos (4,2%). La EM MALDI-TOF no ofreció identificación alguna en 8 casos, pese a que el perfil proteico obtenido era bueno. En los 8 casos, el problema derivó de que se trataba de especies no incluidas en la base de datos de referencia del espectrómetro.

## Conclusiones:

Los datos obtenidos demuestran que, en conjunto, la EM MALDI-TOF ofrece una identificación de bacterias anaerobias sensiblemente más fiable que la identificación bioquímica convencional (24% más identificaciones correctas a nivel de especie), con un número de errores mayores (identificación incorrecta a nivel de género) 2,5 veces inferior. Puesto que todas las identificaciones fallidas derivaron de carencias en la base de datos de referencia, la previsible mejora de esta base de datos en las nuevas versiones incrementará las diferencias de fiabilidad entre ambos métodos.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 141**

### RENTABILIDAD DE LOS HEMOCULTIVOS SOLICITADOS EN EL SERVICIO DE URGENCIAS.

*Autor/a/s: LÓPEZ PLATERO DOLORES LUCÍA ; ORELLANA MORALES INMACULADA; CRESPILO PINTO NURIA; JIMÉNEZ MARTÍN REMEDIOS; IBÁÑEZ GARROTE SONIA MARÍA*

*Centro de trabajo: HOSPITAL GENERAL BÁSICO DE LA AXARQUÍA.. Localidad: VÉLEZ MÁLAGA*

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

## Introducción:

La realización de hemocultivos en el servicio de urgencias es una práctica común a la vez que discutida porque, en comparación con otras determinaciones analíticas de urgencia, requiere mucho tiempo para la extracción y una técnica depurada conseguida con objeto de evitar contaminaciones con flora epitelial del paciente, careciendo de utilidad diagnóstica inmediata.

## Objetivos:

Determinar la rentabilidad de los hemocultivos solicitados desde el servicio de urgencias del H. de la Axarquía durante el año 2012.

## Material y Métodos:

Estudio descriptivo y retrospectivo de los hemocultivos recibidos en el laboratorio de microbiología durante el año 2012. Los hemocultivos se incubaron en el sistema automatizado BacT/Alert 3D® (bioMérieux). La identificación de los aislamientos se realizó mediante el sistema automatizado Vitek®2 (bioMérieux) y utilizando como método de referencia galerías API® (bioMérieux). Se han revisado los resultados emitidos desde microbiología y se han analizado variables como positividad, nivel de contaminación, aislamiento microbiológico y variables demográficas (edad, sexo).

## Resultados:

Se recibieron un total de 7208 frascos de hemocultivos de pacientes adultos procedentes del servicio de urgencias durante el periodo de estudio, de los cuales, el 57% correspondieron a hombres y el 43% a mujeres. Un 87,4% de los mismos resultaron negativos y solo un 12,6% eran positivos. Dentro de estos, un 1,11% presentaban contaminación con flora epitelial y de los microorganismos aislados los más frecuentes son: *E. coli* (36%), *S. hominis* (14%), *S. epidermidis* (12%) y *S. aureus* (6%).

Se reciben un total de 292 hemocultivos pediátricos, de los cuales sólo 19 son positivos y 273 (93,5%) fueron negativos. El 53% correspondieron a niños y el 46% a niñas. Los microorganismos aislados más frecuentes son *S. hominis* (37%), seguidos de *S. epidermidis* y *S. wameryi* (ambos 10,5%).



Por franjas de edad más del 57% del total de frascos pertenecen a personas mayores de 60 años, un 4% a pacientes pediátricos (0-14 años) y el resto procedente de edades comprendidas entre los 15 a 60 años. Dentro del total de positivos, el 72% proceden de adultos mayores de 60 años, el 2% procedentes de pacientes pediátricos y el 25% al resto de franjas de edad.

#### Conclusiones:

Podemos concluir que sería necesario revisar el protocolo de solicitud de hemocultivos desde urgencias ya que el índice de positividad es muy bajo, un 12.6% frente a un 87.4% de negativos, y supone un gasto elevado de material, recurso humanos y de tiempo. El procedimiento de extracción de la muestra es correcta porque existe muy pocos frascos contaminados (1.1 %). El sexo no es un factor relevante, aunque sí la edad, porque se reciben muchas más muestra de personas mayores de 60 años, ya que está en relación con la mayor incidencia de procesos sépticos en esta franja de edad.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 144**

### **BACTERIEMIAS POR E. COLI PRODUCTORAS DE BLEE; MÉTODOS DE DETECCIÓN DE PRODUCCIÓN DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO.**

*Autor/a/s: María Domínguez, Bernardina; Bajo Almendra, María Asunción; Martín Muñoz, María de La Presentación; Calvo Blanco, Enrique.*

*Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario de Salamanca. Localidad: Salamanca*

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

#### Introducción:

Las bacteriemiás (presencia en sangre de bacterias) causan enfermedades graves, sobre todo las bacteriemiás causadas por enterobacterias productoras de BLEE (betalactamasas de espectro extendido). Las BLEE son enzimas capaces de hidrolizar a la mayoría de los antibióticos pertenecientes a la familia de los betalactámicos (excepto a los carbapenems) provocando una gran complicación a la hora de tomar la decisión de que antimicrobiano usar para tratar las infecciones provocadas por bacterias capaces de generar dicha enzima.

#### Objetivos:

Describir los diferentes métodos que aplicamos en el laboratorio de Microbiología del Hospital Clínico Universitario de Salamanca para confirmar la sospecha de dichas BLEE.

#### Material y Métodos:

Tras la obtención de un cultivo positivo para una enterobacteria se realiza su identificación y antibiograma. Al observar el antibiograma y basándonos en los puntos de corte del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) sospechamos la presencia de BLEE cuando las CMI's para cefotaxima son  $\geq 2$  µg/ml y ceftazidima  $\geq 2$  µg/ml. Ante dicha sospecha lo confirmamos mediante dos métodos basados en la inhibición de estas enzimas por amoxicilina-clavulánico. El primero es mediante difusión en discos, colocando cefalosporinas de tercera generación (cefotaxima y/o ceftazidima) y en medio un disco con amoxicilina-clavulánico, a una distancia razonable (20 mm). Si la cepa ensayada es positiva se produce sinergismo y por tanto un incremento del halo de inhibición en la zona de interconexión entre la cefalosporina y amoxicilina-clavulánico. El otro método disponible en nuestro laboratorio es un método recientemente desarrollado que proporciona resultados en 15 minutos, basado en la hidrólisis de una cefalosporina cromogénica (HMRZ-86). Este método utiliza tiras de papel que se humedecen con distintas soluciones de sustrato y en ellas se extienden algunas colonias. El cambio de color (de amarillo a rojo) significa resultado positivo e indica producción de BLEE.

#### Resultados:

De 276 hemocultivos positivos para E. coli durante el periodo de un año en nuestro laboratorio se obtuvieron 40 cepas sospechosas de producir BLEE. Se llevó a cabo la confirmación por alguno de los métodos anteriormente descritos y se confirmaron 40 cepas como productoras de BLEE. De las 40 cepas que se confirmaron, 37 fueron positivas por el método rápido y sin embargo con el método de los discos se confirmaron las 40.

#### Conclusiones:

Ambos métodos son efectivos para la confirmación de la sospecha de BLEE. El método de difusión de discos es más sensible que las tiras cromogénicas aunque es más lento, debido a que hay que esperar 24 horas. Con el método rápido se obtiene los resultados en pocos minutos pero es menos sensible.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 145**

### **BROTE DE SALMONELLA EN LA PROVINCIA DE SALAMANCA.**

*Autor/a/s: Salvador Lorenzo, María José, María Domínguez, Bernardina, Egidio Ándres, Teresa; Clemente Aguilar, María del Mar.*

*Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario de Salamanca. Localidad: Salamanca*

*Correo electrónico del primer firmante: mariajo19@yahoo.es*

#### Introducción:

Salmonella spp. es una bacteria Gram negativa anaerobia facultativa móvil, productora de sulfhídrico. La salmonelosis es una causa de toxoinfección alimentaria, en especial por alimentos de origen animal y pueden aparecer brotes en escuelas, guarderías, restaurantes y residencias de ancianos. Dentro de este género existen diversas especies que cursan con cuadros graves necesitando a veces hospitalización y tratamiento antibiótico. Sin embargo, existen otras especies que producen diarrea autolimitada, la cual no precisa antibióticos, solamente reposición de líquidos; de ahí, la importancia de la identificación a nivel de especie para que el clínico pueda valorar la administración de tratamiento antimicrobiano o simplemente un tratamiento sintomático.

#### Objetivos:

Estudiar un brote de gastroenteritis producido por Salmonella spp. en el mes de Agosto en la provincia de Salamanca.

#### Material y Métodos:

Para la identificación de Salmonella se siembran las heces en los medios de cultivo de Agar sangre, Agar Mac Conkey, Agar XLD (medio específico y selectivo para la búsqueda de Salmonella), Agar Campy y en medio de enriquecimiento de Selenito. A las 24 horas de su siembra se observan las placas. Para confirmar si las colonias sospechosas son o no de Salmonella spp. se le realiza una espectrometría de masas MALDI-TOF. Tras las primeras veinticuatro horas de incubación el medio de selenito se resiembró en XLD que se observará a las siguientes 24 horas. La identificación de especie se obtuvo por Vitek, BioMérieux y la identificación de la serovariedad por método de aglutinación. La sensibilidad a los antimicrobianos se realizó por microdilución mediante Vitek. Ante la sospecha de un brote por Salmonella dada la coincidencia en tiempo y espacio, las cepas recuperadas se enviaron al Centro Nacional de Microbiología, en Majadahonda, para determinar un posible origen común.

#### Resultados:

Durante el mes de Agosto en nuestra provincia hubo un brote y nos enviaron a nuestro laboratorio once muestras. Tras las primeras 24 horas se observó crecimiento en la placa de XLD de colonias "negras"; es decir, que producían sulfhídrico. Las once cepas fueron confirmadas por MALDI-TOF. La identificación y antibiograma por el método Vitek también concluyeron que eran Salmonella entérica entérica. Las once cepas mostraban el mismo patrón de sensibilidad. La aglutinación para identificar la serovariedad resultó, para todas de Salmonella entérica entérica tiphymurii. Los resultados remitidos por el Centro Nacional de Microbiología confirmaron que todas las cepas pertenecían a un mismo clon, todas 9,12; g-m. Fagotipo 14b.

#### Conclusiones:

En el momento actual, es importante en caso de un brote de gastroenteritis derivar la muestra al laboratorio de Microbiología para facilitar un manejo clínico adecuado. Por otro lado, se concluye que se requieren investigaciones más exhaustivas en caso de brotes, para poder implantar las medidas preventivas adecuadas.

**EVOLUCIÓN DE LA PREVALENCIA DE ANTICUERPOS RUBEOLA EN MUJERES EN EDAD FÉRTIL EN EL ÁREA DE SALUD DE SALAMANCA(2005-2012)**

Autor/a/s: Salvador Lorenzo, María José; García Ávila, Josefa; Cuadrado Benito, Teresa; García Camazano, Rosa María

Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario de Salamanca. Localidad: Salamanca

Correo electrónico del primer firmante: mariajo19@yahoo.es

**Introducción:**

La rubeola es una enfermedad infecciosa exantemática inmunoprevenible provocada por un virus RNA de hélice simple que pertenece al género Rubivirus de la familia Togaviridae. La rubéola es especialmente grave si se contrae durante los 4 primeros meses de gestación por la probabilidad de ocasionar abortos espontáneos, muerte fetal y síndrome de rubéola congénita en recién nacidos. Por ello, el principal objetivo e la inmunización frente a la misma es la erradicación de la rubéola congénita a nivel mundial, en base a la protección individual de las futuras gestantes y a la limitación de la circulación del virus como factor de protección par las mujeres seronegativas, no vacunadas ó que experimentaron fracaso vacunal. Se estima que para cumplir dicho objetivo, la prevalencia de seronegatividad debe ser al 5%. En España, las campañas de vacunación comenzaron en 1979, y en 1981 se introdujo en el calendario de vacunaciones con la triple vírica.

**Objetivos:**

Se pretende conocer la situación actual respecto a la seroprevalencia de anticuerpos frente al virus de la rubéola en la población de mujeres gestantes en el área de Salud de Salamanca entre 2005 y 2012 con el fin de valorar el nivel de protección.

**Material y Métodos:**

Se han estudiado un total de 27.539 sueros recogidos desde en 1 de Enero del 2005 hasta el 31 de Diciembre del 2012 en mujeres de entre 15 y 45 años, a las que se le solicitó serología de embarazo.

Se ha realizado la detección de la IgG frente al virus de la rubeola así como la IgM en los casos en los que la IgG era negativa, mediante tecnología de quimio-luminiscencia para determinación cuantitativa de anticuerpos específicos frente al virus de la rubeola (LIASON®, DiaSorin).

Resultado: De las 27.539 muestras estudiadas en los últimos años, hemos obtenido un media de 8,13% de Ig G negativas. Es importante destacar que se ha pasado de un 4% en 2005 hasta un 11,31% en 2012

	TOTAL	POSITIVAS	NEGATIVAS	% NEGATIVAS
2005	3019	2898	121	4,01%
2006	3041	2814	227	7,46%
2007	3449	3189	259	7,51%
2008	3775	3496	279	7,39%
2009	3422	3137	289	8,32%
2010	3797	3483	314	8,26%
2011	3607	3240	367	10,17%
2012	3430	3042	388	11,31%
Σ AÑOS	27539	25299	2240	8,13%

**Conclusiones:**

Se ha observado un incremento de más de un 100% en el número de muestras seronegativas para rubéola en la población a estudio. Hay distintos factores que influyen en el incremento de la seronegatividad de IgG frente a rubeola. El principal de todas ellos es el incremento de la población inmigrante en nuestro área en los últimos años, población procedente en gran medida de zonas donde no está implantada una vacunación sistemática. Sin embargo, otro factor pudiera ser la posibilidad de que la inmunidad conferida por la vacunación no sea permanente, situación similar a la ya observada en el caso de sarampión y parotiditis (recientemente ha habido un brote en población ya vacunada). En conclusión, si bien hasta 2010 el incremento de la seronegatividad podría deberse al notable aumento de la inmigración en España, en 2011 y 2012 no se observa correlación directa entre ambas, y por tanto se deberían tener en cuenta otras posibles causas de este hecho.

**(EVALUACIÓN DE UN TEST AUTOMATIZADO PARA LA DETECCIÓN RÁPIDA EN AISLAMIENTOS MICROBIANOS DEL MECANISMO DE RESISTENCIA BLEA (B-LACTAMASAS DE ESPECTRO AMPLIADO))**

Autor/a/s: NIETO AGUADO, M<sup>a</sup> SOLEDAD; GOMEZ VILLALBA, M<sup>a</sup> GLORIA; ROSA GONZALEZ, M<sup>a</sup> BELEN; DIAZ ZAYAS, M<sup>a</sup> DOLORES; ORELLANA MORALES, INMACULADA

Centro de trabajo: HOSPITAL GENERAL BASICO DE LA AXARQUIA. Localidad: VELEZ MÁLAGA

Correo electrónico del primer firmante: marrojopena@yahoo.es

**Introducción:**

En las bacterias gramnegativas el mecanismo de resistencia a los betalactámicos más importante es la producción de betalactamasas; un grupo importante de estas enzimas son -Lactamasas de Espectro Ampliado (BLEA) que tienen capacidad de hidrolizar y causar resistencia a penicilinas, oximino-cefalosporinas y monobactámicos, pero no a cefamicinas ni a carbapenems, siendo inhibidas por el ácido clavulánico. La presencia de estas enzimas reduce considerablemente el arsenal terapéutico de las infecciones.

**Objetivos:**

La detección rápida de la resistencia a los antimicrobianos así como su caracterización es una prioridad en los laboratorios de microbiología. Su conocimiento ayuda en la elección del antibiótico mas adecuado para el tratamiento de la infección y permite instaurar las medidas adecuadas de aislamiento para evitar la dispersión del microorganismo a otros pacientes. Nuestro objetivo es evaluar un test rápido automatizado para la detección de este mecanismo de resistencia.

**Material y métodos:**

A todos los aislamientos de bacteria gramnegativas aisladas en urocultivos durante el año 2012 se les ha realizado la determinación de su sensibilidad a antimicrobianos mediante el sistema automatizado Vitek®2 (bioMérieux) utilizando las tarjetas de sensibilidad AST-N113 y AST-N244 siguiendo las instrucciones del fabricante. Estas tarjetas disponen de 6 pocillos para la detección automatizada de BLEA que contienen Cefotaxima, Ceftriaxona y Cefepime, con y sin Ácido Clavulánico. EL software asociado a este sistema automatizado utiliza el denominado "Criterio de menor riesgo", en el que, cuando detecta la más mínima sospecha de positividad de este test lo expresa como positivo, para su posterior confirmación. Los resultados positivos de este test fueron comprobados siguiendo las recomendaciones internacionales del CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) mediante la técnica de Épsilon-test (Etest®, bioMérieux). Las tiras de Etest a utilizar son las siguientes: CT/CTL (Cefotaxima/Cefotaxima+Ácido Clavulánico), TZ/TZL (Ceftriaxona/Ceftriaxona+Ácido Clavulánico) y PM/PML (Cefepime/Cefepime+Ácido Clavulánico). La interpretación de los halos de inhibición de las tres tiras se realizó siguiendo estas recomendaciones.

**Resultados:**

Durante el año 2012 se han recogido de forma consecutiva 68 aislamientos de enterobacterias que presentaron el test automatizado de detección de BLEA positivo; 55 aislamientos de E. coli (80,88%) y 13 aislamientos de K. pneumoniae (19,12%). La distribución de aislamientos por fenotipo de resistencia detectado por el test automatizado fue el siguiente:

	BLEA		BLEA, similar CTX-M		BLEA, Hiperproducción SHV-1	
	N	%	N	%	N	%
E. coli	35	51,47	18	16,47	2	2,94
K. pneumoniae	11	16,18	0	-	2	2,94

De los 68 aislamientos, en 65 de ellos (95,59%) se comprobó la presencia de BLEA mediante la técnica de referencia; sólo en 3 de ellos (4,41%) (1 caso de E. coli similar a CTX-M y 2 casos de E. coli BLEA, Hiper producción de SHV-1) se determinó un resultado falso positivo.

**Conclusiones:**

El test rápido automatizado para la detección del fenotipo de resistencia BLEA es un método con una elevada sensibilidad para la detección de este mecanismo de resistencia; a esto se suma la rapidez en la obtención de un resultado que permite la elección correcta y precoz de un tratamiento antimicrobiano efectivo para el tratamiento de la infección.

## AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE PROTOTHECA WICKERHAMII, UN ALGA PATÓGENA POCO FRECUENTE

Autor/a/s: Valderrama Moral, Francisco Antonio; Ortega Pérez, Isabel

Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario Valladolid. Localidad: Valladolid

Correo electrónico del primer firmante: elvengala7@hotmail.com

### Introducción:

Prototheca wickerhamii es un alga muy ubicua carente de clorofila y es una causa rara de enfermedad en el hombre. La enfermedad humana se presenta generalmente en inmunodeprimidos.

Este alga se clasifica en el Dominio: Eukaryota, Reino: Viridiplantae, División: Chlorophyta, Clase: Trebouxiophyceae, Orden: Chlorellales, Familia: Chlorellaceae, Género Prototheca, Especie: Prototheca wickerhamii. Son microorganismos unicelulares parecidos a las algas verdes del género Chlorella sp., de forma que muchos autores las consideran mutantes de las chlorelas. Viven en el medio ambiente. Se reproducen por endosporulación: como consecuencia de la división del núcleo hay una división citoplasmática que originan de 2 a 20 o más endosporas. El género Prototheca incluye tres especies: Prototheca zopfii asociada a patología en animales, Prototheca wickerhamii que es un patógeno humano, y Prototheca stagnora que es saprofita.

### Objetivos:

Se presenta un aislamiento de Prototheca wickerhamii a partir de un exudado producido como consecuencia de una infiltración en el tendón de Aquiles en un paciente inmunodeprimido.

### Material y métodos:

El material purulento procedente del paciente se inoculó en placas de medio de Sabouraud glucosa y Sabouraud glucosa + cloranfenicol. Estas placas se incuban a 28 °C y 37 °C en atmósfera aerobia. La observación de los cultivos se realizó a las 24 y 48 horas de incubación y posteriormente una vez a la semana.

Se realizó el estudio macroscópico y microscópico de las colonias. La identificación se realizó mediante el sistema Api 20C Aux (BioMérieux)

### Resultados:

A los 13 días de incubación se observó crecimiento de unas colonias de 4-5 mm de diámetro de color crema claro similares a las de las levaduras. Se procedió al estudio microscópico en contraste de fases con objetivos de 40X y 100X observándose la presencia de un microorganismo unicelular de 5-7 µm de diámetro sin ninguna agrupación característica y con una morfología claramente distinta a la de las levaduras. Se procedió a una tinción de Giemsa en la que se observó la morfología característica de este microorganismo. La identificación se realizó mediante el Api 20C Aux que a las 72 horas de incubación proporcionó una identificación de Prototheca wickerhamii.

Días después de este primer aislamiento al ser un patógeno poco frecuente, se repitió el cultivo con una nueva muestra que proporcionó los mismos **Resultados:**

### Conclusiones:

El estudio morfológico macroscópico y microscópico de las colonias es suficiente para la identificación a nivel de género de las algas del género Prototheca.

Para la identificación a nivel de especie es preciso realizar un estudio bioquímico. El sistema Api 20C Aux permite una identificación fácil y cómoda de las especies de Prototheca

### Introducción:

La Borrelia burgdorferi es una espiroqueta que causa la Enfermedad de Lyme transmitida al hombre por la mordedura de ciertas garrapatas, el vector principal es Ixodes ricinus en Europa, el ciclo estacional dura dos años, siendo el único periodo de riesgo para el hombre el de la actividad de las ninfas, que sería la primavera o, según la humedad, el verano.

La enfermedad evoluciona en tres estadios, y estos pueden coexistir haciendo difícil su distinción. Es compleja con manifestaciones precoces y tardías como: eritema migratorio generalmente acompañado de síntomas pseudogripales, eritema múltiple con signos neurológicos, cardiológicos, reumatológicos o acrodermatitis crónica atrofiante acompañada de signos extra cutáneos neurológicos, reumáticos o cardiológicos.

La infección está ampliamente distribuida por toda España con una prevalencia que oscila entre el 0% y el 38%, dependiendo de la zona geográfica, las más altas se encontraron en el norte de España.

Su importancia para la Salud Pública es relevante en los focos endémicos comprobados hasta la fecha en nuestro país, como La Rioja, Castilla-León, País Vasco, y otras zonas de la cornisa cantábrica.

### Objetivos:

El diagnóstico de esta infección es en muchos casos difícil, pues puede presentar signos y síntomas inespecíficos. Por tanto los datos serológicos es indispensable para el diagnóstico de esta infección.

La finalidad del estudio es determinar mediante métodos serológicos la infección por Borrelia burgdorferi en el área de A Coruña y determinar, en proporción, que unidades son las demandadas.

### Material y métodos:

Mini-Vidas Biomérieux determinación cualitativa detección simultánea de inmunoglobulinas G y M anti Borrelia burgdorferi por método ELFA(Enzyme Linked Fluorescent Assay).

Determinación por ELISA de positivas y dudosas., y de Western Blot.

Un total de 1311 determinaciones entre 2008 y 2012.

### Resultados:

MUESTRAS (2008-2012)					
AÑO/MUESTRAS	2ª MUESTRA NEGATIVA	CONFIRMADAS WB+	NO CONFIRMADAS WB -	NO CONCLUYENTE WB	NO ENVIADA NUEVA MUESTRA
2008	4	-	-	2	7
2009	1	3	6	2	13
2010	6	3	7	2	7
2011	4	1	13	3	8
2012	1	3	8	4	16
TOTAL 5 AÑOS	16	10	34	13	51

Entre 2008 y 2012 se realizaron 1.311 muestras, siendo negativas 1.187 y positivas 124; de las cuales tan solo 10 fueron confirmadas por Western Blot y el resto resultaron ser falsos positivos no concluyentes y no siendo enviada la segunda muestra para confirmar.

### Conclusiones:

En los últimos 5 años fueron confirmadas el 12% de la Borrelia burgdorferi. El servicio con mayor demanda de Borrelia fue neurología seguido de dermatología en el área de A Coruña.

## EL ESTUDIO DEL MICROBIOMA APORTA DATOS RELEVANTES PARA SU UTILIZACIÓN EN PRÁCTICA CLÍNICA

Autor/a/s: Mérida del Caño María Dolores, Pérez Pinar Carmen, Sánchez Álvarez Antonio, López Bueno Josefa, Espigares Gallardo María Angeles, Camara Medina Purificación, Lopez Cobos Francisca, Chueca Natalia, Alvarez Marta y García García F.

Servicio de Microbiología del Hospital Clínico Universitario San Cecilio. Granada.

Centro de trabajo: H.U. San Cecilio. Localidad: Granada

Correo electrónico del primer firmante: mdmdca.69@gmail.com

## SEROPREVALENCIA DE LA BORRELIA BURGDORFERI EN ÁREA SANITARIA DE A CORUÑA

Autor/a/s: María José Muño Andrade, María Luisa Fafian Ares

Centro de trabajo: CHUAC. Localidad: AS XUBIAS S/N- A CORUÑA

Correo electrónico del primer firmante: ramalleiran25@yahoo.es



## Introducción:

La microbiología tradicional se basa en el estudio de los microorganismos como especies aisladas. Con las nuevas tecnologías de secuenciación masiva es posible disponer del resultado de poblaciones completas de microorganismos sin necesidad de aislar cada uno por separado, en poco tiempo y a bajo coste. Se abre un nuevo campo en el área de la Biomedicina, proyectos tales como el Proyecto Microbioma Humano (Human Microbiome Project o HMP, del NIH, estudios de microbiomas en enfermedades crónicas, fibrosis quística, diarreas. Para realizar este tipo de estudios empleamos la secuencia de ADN que codifica la subunidad 16S del ARN ribosomal para identificación de la población bacteriana. Nos propusimos la puesta a punto del protocolo para obtener datos de microbiomas de los pacientes empleando la plataforma GS Junior 454 (Roche).

## Método:

Se amplificó la región hipervariable V1-V3 del gen rADN16S empleando primers universales ampliamente contrastados. Tras comprobar la cantidad (picoGreen) y calidad de los amplicones se completaron las librerías y se secuenció por pirosecuenciación con un GS Junior 454 (Roche). 24 muestras de heces de 8 pacientes sanos en 3 tiempos diferentes se emplearon para poner a punto la técnica. Las secuencias obtenidas se analizaron en el servidor MG-RAST (Metagenomics Rapid Annotation using Subsystem Technology) y se obtuvieron datos de abundancia y composición de los microbiomas estudiados. Para determinar la taxonomía se emplearon las bases de datos: RDP, Greengenes, SSU (Silva).

## Resultados:

Se obtuvieron 118.353 secuencias tras procesamiento Shotgun (41.176.791 bases), con una mediana de longitud de 440 pares de bases (bp) (1196bp-40bp) y moda de 516bp, la media del valor de calidad fue de 32 con una desviación estándar de 8,57. La mediana de secuencias por microbioma fue de 4.716 secuencias y la diversidad-alfa de 46,80. A nivel de orden se ha encontrado: Actinobacteria 0,20%, Bacteroidetes 47,80%, Firmicutes 36,16%, Proteobacteria 3,79%, Tenericutes 0,08%, Verrucomicrobia 1,37%, unclassified (pero derivadas de Bacteria) 7,41%. A nivel de género: Acidaminococcus 1 (0,9%), Alistipes 3 (2,8%), Anaerostipes 1 (0,9%), Bacteroides 21 (19,6%), Barnesiella 1 (0,9%), Blautia 1 (0,9%), Butyrivibrio 1 (0,9%), Clostridium 21 (19,6%), Collinsella 1 (0,9%), Desulfohalobium 1 (0,9%), Desulfomicrobium 1 (0,9%), Dialister 2 (1,9%), Eubacterium 7 (6,5%), Faecalibacterium 1 (0,9%), Finegoldia 1 (0,9%), Flavobacterium 1 (0,9%), Haemophilus 1 (0,9%), Lachnospira 1 (0,9%), Odoribacter 1 (0,9%), Paenibacillus 1 (0,9%), Parabacteroides 5 (4,7%), Paraprevotella 2 (1,9%), Porphyromonas 1 (0,9%), Prevotella 4 (3,7%), Pseudobutyrvibrio 1 (0,9%), Rikenella 1 (0,9%), Robinsoniella 1 (0,9%), Roseburia 4 (3,7%), Ruminococcus 3 (2,8%), Sarcina 1 (0,9%), Streptococcus 1 (0,9%), Syntrophococcus 1 (0,9%), Tissierella 1 (0,9%), sin clasificar (derivada de bacteria) 7 (6,9%), Veillonella 3 (2,8%).

## Conclusiones:

Con las nuevas herramientas es posible estudiar el microbioma en muestras clínicas. Estos datos ya están disponibles para su empleo en la práctica clínica.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 164**

### ¿CUÁNTO DURA EL RESULTADO BASAL DE TROPISMO DEL VIH-1 DE PLASMA TRAS INICIAR TARGA?

*Autor/a/s: Pérez Pinar Carmen, Mérida del Caño María Dolores, Sánchez Álvarez Antonio, López Bueno Josefa, Espigares Gallardo María Angeles, Camara Medina Purificación, Lopez Cobos Francisca, Chueca Natalia, Alvarez Marta y García García F.*

*Servicio de Microbiología del Hospital Clínico Universitario San Cecilio. Granada.*

*Centro de trabajo: H.U. SAN CECILIO. Localidad: GRANADA*

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

## Introducción:

Actualmente se está proponiendo emplear un resultado de tropismo previo como elemento de toma de decisiones clínicas en los casos en los que se desea simplificar con Maraviroc y no es posible obtener un resultado de tropismo. En este trabajo, nos planteamos realizar un estudio longitudinal de evolución de tropismo, registrando como tiempo 0 el valor de tropismo de los viriones en plasma (antes de iniciar tratamiento), y como seguimiento, detección de cambios en el tropismo obtenidos de ADN proviral en diferentes periodos de tiempo.

## Pacientes y métodos:

En el estudio se han incluido 134 pacientes (mediana de edad: 46 años [22-76], 78.65% varones, mediana de exposición previa a antirretrovirales de 7.9 años [0-21.2] y con una mediana de 2 líneas de tratamiento previos [0-23]). La secuencia de V3 se amplificó y secuenció a partir de viriones en muestra de plasma a tiempo 0 (basal) y posteriormente de muestra de ADN proviral procedente de CMSPs obtenidos por técnica de centrifugación por gradiente de densidad (ficoll hypaque). Para obtener datos de tropismo se empleó la herramienta geno2pheno, fijando la tasa de falso positivo (FPR) al 10% según las recomendaciones europeas. Se contabilizaron los casos de cambios de tropismo CCR5 en plasma a CXCR4 en ADN proviral teniendo en cuenta cuánto tiempo había transcurrido desde el resultado de tropismo en plasma.

## Resultados:

32 (23.7%) pacientes mostraron virus con tropismo basal CXCR4, y el resto, 103 (76.3%) fueron CCR5. Estos 103 pacientes se estratificaron según el tiempo de seguimiento en: n=23, < 6 meses; n=15, 6 meses – 1 año; n=27, 1-2 años; n=28, 2-4 años; n=10 > 4 años. No se registro ningún cambio de tropismo plasma-ADN proviral dentro de los pacientes del grupo < 6 meses. 2/38 (5.26%), 7/65 (8.08%), 13/93 (13.15%) y 19/103 (18.93%) de los pacientes cambiaron de CCR5 (plasma) a CXCR4 (ADN proviral) en el grupo de hasta 1, 2, 4 y mas de 4 años respectivamente. Del análisis de regresión logística, el tiempo transcurrido desde la determinación basal (plasma) a la determinación en ADN proviral resultó ser un factor que se asociaba con el cambio de tropismo con una p<0,0001; < 2 años vs 2-4 años, p=0.026). En el análisis multivariante, el tiempo transcurrido desde plasma a ADN proviral resultó ser un predictor independiente de cambio de tropismo con una p=0,0005238.

## Conclusión:

Los cambios de tropismo CCR5 a tropismo CXCR4 son inexistentes o poco frecuentes a corto plazo y se podría emplear el dato basal para simplificar con Maraviroc. Nuestros datos apoyarían la recomendación de realizar un screening basal del tropismo del VIH-1 en plasma a todos los pacientes naïve que vayan a iniciar tratamiento.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 169**

### VALORACIÓN MEDIANTE TÉCNICA INMUNOCROMATOGRÁFICA DE LA COLONIZACIÓN POR STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

*Autor/a/s: ANA FLOR NAVARRO PLAZA, M. INES SERRANO FERNÁNDEZ, AMALIA MORALES SOLANA, FRANCISCA LOMAS LÓPEZ, JULIAN TEBAR SALAZAR, ANA MARÍA GARCÍA ROJO*

*Centro de trabajo: HOSPITAL GENERAL TOMELLOSO. Localidad: TOMELLOSO*

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

## Introducción:

Streptococcus pneumoniae constituye la principal causa de neumonía adquirida en la comunidad. La falta de un diagnóstico rápido puede dar lugar a bacteriemia, endocarditis, pericarditis, enfisema, meningitis, púrpura fulminante y/o artritis con un índice de mortalidad de hasta el 30% en función de distintos factores de riesgo como las edades extremas de la vida o enfermedades subyacentes, especialmente la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).

## Objetivo:

El objetivo de nuestro estudio ha sido determinar el estado de portador de S. pneumoniae en pacientes del Área Sanitaria del Hospital de Tomelloso (Ciudad Real) mediante una técnica inmunocromatográfica.

## Material y Métodos:

Se estudiaron 60 muestras de esputo procedentes del mismo número de pacientes recibidas en el Laboratorio de Microbiología de nuestro hospital desde diciembre de 2011 a enero de 2012. Previo a su procesamiento mediante la técnica de inmunocromatografía BinaxNOW (Inverness Medical, Suecia), aprobada para la detección cualitativa de antígeno de S. pneumoniae en orina y LCR, se mezclaron 0,5 ml de muestra con 0,5 ml de suero fisiológico y tres perlas de vidrio en cada vial. Posteriormente las diluciones se vortearon durante 10 segundos para lisar los esputos y se procedió a la realización de la técnica siguiendo las instrucciones del fabricante. La positividad del test se establece por la aparición de una línea de coloración rosa violeta. Paralelamente los esputos se cultivaron en agar Columbia



(Soria Melguizo, España) con disco de optoquina para el aislamiento de colonias de *S. pneumoniae*.

### Resultados:

Los pacientes estudiados fueron en su mayoría atendidos en los Servicios de Neumología y Medicina Interna, 28 de origen ambulatorio y 32 hospitalizados. En 48 de los pacientes estudiados (80,0%) se aisló *S. pneumoniae* en el cultivo microbiológico. Estos mismos pacientes resultaron igualmente positivos mediante la técnica inmunocromatográfica, el 100% de los ambulatorios y 23 (71,9%) de los hospitalizados.

### Conclusiones:

La colonización fue mayor en los pacientes ambulatorios, lo que pudo deberse a que los hospitalizados estaban siguiendo algún tratamiento antibiótico. El nivel de colonización resultó elevado en ambos grupos. La técnica de inmunocromatografía presentó buena correlación con la detección en cultivo. Aunque este método no es útil para el diagnóstico de neumonía por *S. pneumoniae*, sí podría emplearse para la detección de portadores de esta bacteria en pacientes de riesgo.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 170**

### ESTUDIO COMPARATIVO PARA EL AISLAMIENTO DE SARM CON DOS MEDIOS CROMOGENICOS

*Autor/a/s: AMALIA MORALES SOLANA, M. INÉS SERRANO FERNANDEZ, JULIÁN TEBAR SALAZAR, ANA FLOR NAVARRO PLAZA, FRANCISCA LOMAS LÓPEZ, ANA MARÍA GARCÍA ROJO*

*Centro de trabajo: HOSPITAL GENERAL DE TOMELLOSO. Localidad: TOMELLOSO*

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

### Introducción:

*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) es el agente etiológico de múltiples infecciones, entre otras, bacteriemia, endocarditis, infección de piel y tejidos blandos, del SNC o del tracto genitourinario. Su importancia radica en las escasas opciones farmacológicas que existen para su tratamiento ya que, además de ser resistente a los betalactámicos, a menudo asocia resistencia a otros grupos de antibióticos. La rápida identificación de los individuos colonizados, especialmente pacientes hospitalizados o sujetos institucionalizados, permite disminuir la propagación de esta superbacteria.

### Objetivo:

El objetivo de nuestro estudio ha sido comparar la capacidad de detección de SARM de dos medios de cultivo cromogénicos de distintas casas comerciales.

### Material y Métodos:

Se ensayaron 62 cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de pacientes del Área Sanitaria del Hospital General de Tomelloso, que habían sido incluidos en el programa de vigilancia de SARM. Las cepas se cultivaron en los medios chromID MRSA (bioMérieux, Francia) y Brilliance MRSA agar (Oxoid ThermoFisher, Reino Unido) y se incubaron a 37°C en atmósfera aerobia durante 48 horas. Se realizó lectura de los cultivos a las 24 y 48 horas de manera definitiva. Según las fichas técnicas de los productos, las colonias compatibles con SARM crecen de color verde en el medio chromID MRSA debido a la producción de alfa-glucosidasa y a la presencia de cefoxitina, y en el medio Brilliance MRSA agar crecen de color azul vaquero por la presencia de fosfatasa y de un nuevo marcador que reemplaza a la cefoxitina. Todas las colonias se identificaron por el sistema automatizado Wider (Soria Melguizo, España) y se ensayó la CMI de oxacilina para determinar la resistencia a meticilina.

### Resultados:

Del total de cepas estudiadas 43 fueron SARM (69,35%), 28 (65,12%) procedentes de pacientes hospitalizados y 15 (34,88%) de usuarios de residencias de mayores. El medio chromID MRSA identificó correctamente 35 cepas (81,39%), el diámetro de las colonias fue de >1 mm y la coloración verde aguamarina a las 24 horas de incubación, que viró a color manzana golden a las 48 horas. El medio Brilliance MRSA agar identificó el 100% de las cepas estudiadas, las colonias fueron de 1 mm y de tonalidad azul vaquero a las 24 y 48 horas. Las colonias de *Staphylococcus aureus* sensibles a meticilina (SASM) aparecieron de color verde fluorescente y añil respectivamente.

### Conclusiones:

La colonización fue mayor en los pacientes hospitalizados que en los usuarios de residencias de mayores. El medio Brilliance MRSA agar resultó ser más específico que el medio chromID MRSA, pero ambos fueron igual de sensibles y permitieron la identificación rápida en 24 horas de la bacteria.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 175**

### SARM (STAPHYLOCOCCUS AUREUS METICILÍN-RESISTENTE) EN PACIENTES DE REANIMACION

*Autor/a/s: Monika Aras Ibarzabal, Olvido Herrero Rodríguez, Ana María Butrón Vega, Dr Guillermo Ezpeleta Lobato y Dr. Ramón Cisterna Cancer*

*Centro de trabajo: Sección Antibióticos. Laboratorio Microbiología del Hospital Universitario Basurto. Localidad: Bilbao*

*Correo electrónico del primer firmante: monika@irakari.jazztel.es*

### Introducción:

*El Staphylococcus aureus* es un coco Gram negativo, anaerobio facultativo, productor de coagulasa, inmóvil y no esporulado, que se encuentra ampliamente distribuido por todo el mundo, estimándose que una de cada tres personas se hallan colonizadas por ella aunque no infectadas.

En los últimos 60 años, *S. aureus* ha evolucionado a la resistencia, coincidiendo con la Introducción: de diferentes antibióticos. La Introducción: de la meticilina en 1960 supuso un gran avance en el tratamiento de las infecciones estafilocócicas, pero un año más tarde se observó que existían cepas resistentes a este antibiótico que tenían una proteína fijadora a la penicilina (PBP) con menor afinidad por los betalactámicos.

Este patógeno, *Staphylococcus aureus* meticilín-resistente SARM es una de las principales causas de infección intrahospitalaria, cuyas manifestaciones clínicas varían desde pústulas hasta septicemia y muerte.

### Objetivo:

Nuestro objetivo es determinar la incidencia del SARM en pacientes del servicio de reanimación del Hospital Universitario Basurto durante el año 2012.

### Material y métodos:

Las enfermeras de control de infección remiten las torundas nasales de pacientes ingresados en el servicio de reanimación.

Por un lado se siembra la torunda en medio ChromID MRSA (BioMérieux)

La identificación directa de cepas está basada en la coloración espontánea verde de las colonias productoras de alfa-glucosidasa.

Por otro lado se realiza una PCR mediante la prueba BD GeneOhm StaphSR. La torunda nasal se coloca en un tampón de muestras y se lisa. Se añade una alícuota de la muestra lisada a una mezcla de reactivos de PCR que contienen los cebadores específicos de SARM utilizados para amplificar en el caso de estar presentes las dianas genéticas.

### Resultados:

Se procesaron un total de 452 pacientes que se encontraban ingresados en la sección de reanimación. De ellos 410 tuvieron tanto el cultivo como la PCR negativos.

En 16 pacientes la PCR y el cultivo fueron positivos y en 17 el cultivo fue positivo y la PCR negativa; con lo que se aislaron a los enfermos y se realizó el tratamiento antibiótico.

En 9 casos la PCR fue positiva y el cultivo negativo, con lo que se suspendió el aislamiento (al hacerse en un primer momento por ser la PCR positiva) y se continuó el tratamiento

### Conclusiones:

La rápida identificación del SARM a través de la prueba BD GeneOhm StaphSR, hace que podamos aislar a los pacientes ingresados en reanimación que presentan el patógeno y así evitar posibles colonizaciones en otros pacientes.

Además un tratamiento inicial temprano es crucial para optimizar los resultados en los pacientes con esta enfermedad.

# PREVALENCIA DE INFECCION NOSOCOMIAL POR, STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A METICILINA(SARM), ACINETOBACTER MULTIRRESISTENTE (ABMR), EN EL COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO DE BADAJOZ.

Autor/a/s: Ortiz Martín, M<sup>a</sup> Inmaculada; González González, Ana Belén; Bellón Durán, M<sup>a</sup> Antonia; Bravo Carmona, María; Gutiérrez Delgado, M<sup>a</sup> Dolores; Gaona Alvarez, Cristina; Rodríguez Garrido, Saray.

Centro de trabajo: Hospital Infanta Cristina. Localidad: Badajoz

Correo electrónico del primer firmante: macu673@hotmail.com

## Introducción:

SARM y ABMR, son dos bacterias que limitan las opciones terapéuticas en este tipo de infecciones.

## Objetivo:

Describir la frecuencia de SARM y ABMR aislados en nuestro complejo hospitalario entre Enero y Diciembre 2012

## MATERIAL Y MÉTODO

Todas las muestras recibidas se cultivaron en Agar sangre y Agar chocolate (Biomerieux). La identificación y sensibilidad se realizaron mediante paneles del sistema automatizado MicroScan (SIEMENS).. Para los cultivos de vigilancia de SARM y ABMR se usaron los medios Metiliclin Resistant Staphylococcus aureus agar y Leeds Acinetobacter Medium respectivamente.

La sensibilidad a colistina del A. baumannii se comprobó mediante tiras de E-test (Biomerieux).

Una vez detectada la colonización, se procedió a aplicar las medidas de aislamiento de los pacientes y limpieza de material hospitalario siguiendo los protocolos establecidos por el servicio de medicina preventiva de nuestro hospital.

## Resultados:

	M.INTER		UCI		NEUMO		C.GENERAL		REA		NEFRO		TRAUMA		OTROS		TOTAL
	MRSA	ABMR	MRSA	ABMR	MRSA	ABMR	MRSA	ABMR	MRSA	ABMR	MRSA	ABMR	MRSA	ABMR	MRSA	ABMR	
ENERO	3				1		4				1				3		11
FEBRERO	2		3		2		4		1						2		14
MARZO	6		3	2			2				1				2		14
ABRIL	5	1		1	1		1				1		1		2	1	11
MAYO	4	1	3				6								7		20
JUNIO	2	3	2			2	1							3	3	4	12
JULIO	4	4		6			1	2	2	1	1			2	6	2	16
AGOSTO	2	3	1	3		1	1	1		1			2		5	5	14
SEPTIEMBRE	3	4	1	5			3	3				1	1		4	2	15
OCTUBRE	4	8		8				2	1			1	2		4	5	29
NOVIEMBRE	4	3	1	5	1	2	3			5	1	3	2		1	5	18
DICIEMBRE	2	9		9	1	3	2						1		1	2	23
TOTAL	41	36	14	39	6	8	28	8	4	7	5	5	9	5	41	26	134

## Conclusión:

- SARM y ABMR son dos microorganismos ampliamente distribuidos por los diferentes servicios del hospital.

- La modalidad de identificación y aislamiento son fundamentales para el control de los brotes.

# CASO CLINICO: ARCANOBACTERIUM HAEMOLYTICUM. IDENTIFICACIÓN POR ESPECTROMETRIA DE MASAS DE DESORCIÓN/IONIZACIÓN LASER

Autor/a/s: BARBA MIRAMONTES MARIA JOSE

Centro de trabajo: Complejo Hospitalario Universitario A Coruña. Localidad: A Coruña

Correo electrónico del primer firmante: maria.jose.barba.miramontes@sergas.es

## Introducción:

El género Arcanobacterium viene de "arcano" que significa "misterioso, secreto" y "bacterium", como su nombre indica puede pasar fácilmente desapercibido así tenemos que ser vigilantes para su detección en el laboratorio microbiológico por las infecciones que puede causar. Su identificación se ve facilitada por el uso de nuevas tecnologías como la espectrofotometría de masas MALDI-TOF.

## Objetivo:

Se nos plantea la detección de los microorganismos de una secreción purulenta de un paciente varón de 21 años que llega al hospital con otitis media crónica con episodios de otorrea derecha.

## Material y métodos:

La muestra se recogió en un vial Port-a-Cult y se envió al laboratorio de microbiología. Donde se sembró para el cultivo de microorganismos aerobios en placas de Agar sangre y Agar chocolate que se incubaron en atmósfera rica en CO<sub>2</sub> a 37°C, Agar McConkey y caldo de tioglicolato enriquecido con carbonato cálcico que se incubaron en atmósfera de aire a 37°C. Para el cultivo de microorganismos anaerobiosis se realizó la siembra en Agar Schaedler, Agar Schaedler Kanamicina-Vancomicina y Agar Bacteroides Bilis Esculina con Amikacina que se incubaron en atmósfera anaeróbica a 37°C.

Al cabo de 48 horas en el cultivo de anaerobios se observó el crecimiento de unas colonias en agar Schaedler.

Al cabo de 48 en el cultivo aerobio se observó un pequeño crecimiento en agar sangre de colonias que producían betahemólisis, se procedió a realizar una tinción de gram y a la realización de pruebas bioquímicas: se siguió los criterios descritos por Krech y Hollis, que incluyen: producción de catalasa, reducción de nitratos, producción de ureasa, hidrólisis de la gelatina, motilidad, CAMP test (se realizó con la cepa S.aureus ATCC 25923), y fermentación de glucosa, maltosa, sacarosa, manitol y xilosa.

Además se hicieron pruebas bioquímicas y enzimáticas con sistema API: pirrolidónil arilamidasa, fosfatasa alcalina, beta-glucuronidasa, beta-galactosidasa, alfa-glucosidasa, N-aceti-beta-glucoaminadasa, ureasa e, hidrólisis de esculina.

Se estudió la sensibilidad del microorganismo aerobio en Agar Muller-Hinton sangre en atmósfera rica en CO<sub>2</sub> a 37°C

La identificación final la realizamos mediante espectrofotometría de masas de desorción/ionización láser (MALDI-TOF)

## Resultados:

Se observó en el gram Bacilos gram positivos, respecto a las pruebas bioquímicas: negativas a catalasa (al contrario de la mayoría de las corynebacterias), nitrato, urea, hidrólisis de la gelatina, motilidad, hidrólisis de la esculina, fermentación del manitol y la xilosa; y positivas a la fermentación de glucosa y lactosa. Con relación a las pruebas enzimáticas: negativo a pirrolidónil arilamidasa, beta-glucuronidasa y N-aceti-beta-glucoaminadasa; y positivo a fosfatasa alcalina, beta-galactosidasa y alfa-glucosidasa.

Test de CAMP invertido positivo.

La identificación por MALDI-TOF del microorganismo anaerobio fue Parvimonas micra, y del microorganismo aerobio Arcanobacterium haemolyticum, con un score de 2.219.

Respecto a la sensibilidad del microorganismo era sensible a macrólidos (eritromicina) clindamicina, doxiciclina, penicilina y gentamicina.

## Conclusión:

La importancia de la incubación del cultivo más de 24 horas para la detección del microorganismo

Mientras que los métodos bioquímicos necesitan un mínimo de 24 horas para permitir el crecimiento del germen, la espectrometría de masas MALDI-Tof permite la identificación en simplemente unos minutos con 1 sola colonia,

Por ello consideramos que la espectrofotometría de masas de desorción/ionización láser (MALDI-TOF) como un método rápido, económico y seguro de gran utilidad para la identificación del *Arcanobacterium* de modo que no permanezca como un microorganismo "secreto".

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 188**

### **IMPORTANCIA DE UNA CORRECTA RECOGIDA DE MUESTRA PARA EL CONTROL DE GÉRMESES MULTIRRESISTENTES**

*Autor/a/s: Barba Miramontes, María José ; Celia Fernández García; Encarnación Martínez Martínez; M<sup>a</sup> Cristina Bermúdez Mosquera; Gema Rodríguez Díaz; Elena Carreira Carballal.*

*Centro de trabajo: Complejo Hospitalario Universitario A Coruña. Localidad: A Coruña*

*Correo electrónico del primer firmante: maria.jose.barba.miramontes@sergas.es*

#### **Introducción:**

Las infecciones nosocomiales constituyen un problema de gran importancia clínica y epidemiológica, debido a que condicionan el incremento en las tasas de morbilidad y mortalidad. Así que resulta fundamental una buena recogida de muestra para la prevención, vigilancia y control de dicha infección.

#### **Objetivos:**

- Ante la necesidad de elaborar un Manual de Recogida de Muestras de Microbiología para el Complejo Hospitalario Universitario de la Coruña (CHUAC) decidimos valorar de si existiría una mejor detección de gérmenes multirresistentes en los frotis de piel intacta de pacientes aislados humedeciendo el hisopo del escobillón en suero salino fisiológico respecto a hisopo seco.
- Utilizar la evidencia científica en la recogida de muestras para Microbiología.

#### **Material y métodos:**

Estudio prospectivo doble ciego.

El periodo estudiado fue de ocho meses.

La muestra fueron pacientes en aislamiento de contacto en las Unidades de Infecciosos o Quemados con algún control de gérmenes multirresistentes positivo. Se recogieron y valoraron en total 284 muestras de pacientes.

Se recogió doble toma a todos los pacientes que reunían los requisitos, tanto en caso de frotis de piel intacta como de mucosas y heridas. Uno de los hisopos se recogía en seco, como se venía haciendo hasta ahora y otro se humedecía previamente con una gota de suero salino fisiológico.

Al llegar a Microbiología las muestras eran etiquetadas con distinto número de registro, una llevaba la incidencia "con suero fisiológico" y la otra "sin suero fisiológico". Otra persona las sembraba en medios selectivos: si la petición era *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en medio selectivo Chromagar MRSA (BD) y si la petición eran Bacilos gran negativos multirresistentes en Agar MacConkey con 2mg/L de cefotaxima (Biomérieux). Ambas eran incubadas en estufa a 37°C en atmósfera aeróbica. Se evaluó crecimiento e identificación de colonias a las 24 y 48 horas de incubación

#### **Resultados:**

1-En el global de muestras se observa una mayor recuperación de gérmenes multirresistentes en caso de hisopo humedecido con suero salino fisiológico (123) frente a hisopo seco (102).

2-Se encontró mayor número de recuperación en el caso de localizaciones de piel intacta cuando se humedecía el hisopo (26/18 en frotis axilar, 2/1 en perineal).

#### **Conclusión:**

Como medida de buena praxis para garantizar la seguridad de nuestros usuarios sería adecuado introducir en nuestros protocolos de recogida de muestras de frotis para el control de de gérmenes multirresistentes en piel intacta la recomendación de humedecer el hisopo previo a la recogida con una gota de suero salino fisiológico.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 192**

### **DETECCIÓN DE ANTÍGENOS DE LEGIONELLA Y NEUMOCOCCO EN ORINAS DE PACIENTES PROVENIENTES DE ÁREA DE SALUD DE BADAJOZ.**

*Autor/a/s: González González, Ana Belén; Gutiérrez Delgado, María Dolores; Bravo Carmona, María; Ortiz Martín, M<sup>a</sup> Inmaculada; Gaona Álvarez, Cristina y Rodríguez Garrido, Saray.*

*Centro de trabajo: Hospital Infanta Cristina. Localidad: Badajoz*

*Correo electrónico del primer firmante: anna7705bada@hotmail.com*

La *Legionella pneumophila* y el *Streptococcus pneumoniae* son dos bacterias con características microbiológicas diferentes pero con un mecanismo de transmisión similar mediante la inhalación de partículas bacterianas. El tratamiento antibiótico puede variar sustancialmente una de otra.

#### **Objetivo:**

Utilizar una técnica rápida y fiable que permita diagnosticar entre tipo de infecciones para instaurar de forma precoz un tratamiento dirigido.

#### **Material y métodos:**

Entre el mes de Enero – Diciembre del 2012 se analizaron 425 muestras de orina para la detección de la legionella. Para el estudio de neumococo se analizaron 542 muestras. Se emplea un test rápido de inmunoensayos cromatográficos sobre membrana para detectar antígenos solubles en orina. Para cada test se necesita un volumen de 10ml de orina recogida en recipiente estéril. Posteriormente se necesita una concentración de orina 25x.

#### **Resultados:**

Entre el mes de Enero – Diciembre del 2012 se analizaron 425 muestras de orina para la detección de la legionella de las cuales 3 resultaron positivas; el 66% fueron hombres. Para el estudio del neumococo se analizaron 542 muestras, 17 resultaron positivas; el 64,7% fueron hombres con una media de edad de 71 años y el 35,3% mujeres con una media de edad de 68 años.

#### **Conclusiones:**

Son técnicas rápidas, sencillas y de fácil manejo e interpretación.

Debido a la rápida detección de la enfermedad con estas técnicas se puede instaurar de forma precoz un tratamiento dirigido.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 196**

### **ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE LOS AISLAMIENTOS DE SALMONELLA EN EL SECTOR II DE ZARAGOZA**

*Autor/a/s: URCIA ROZAS CARLOTA, TRASOBARES GRACIA M.PILAR, GUERRERO BLANCO ARACELI, CARRERAS FERNÁNDEZ M.CARMEN, LAÍN MIRANDA M. ELENA*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO MIGUEL SERVET. Localidad: ZARAGOZA*

*Correo electrónico del primer firmante: cur80@hotmail.com*

#### **Introducción:**

El género *Salmonella* es un bacilo gramnegativo, anaerobio facultativo, móvil, perteneciente a la familia Enterobacteriaceae.

En la actualidad la taxonomía de *Salmonella* se ha simplificado, reagrupando todas las cepas (patógenas o no) en dos únicas especies:

- *S. enterica*: dividida en 6 subespecies, de las que la subespecie enterica I es la única que produce patología humana.
- *S. bongori*: anteriormente subespecie V, se aísla en animales de sangre fría y muestras ambientales.

*Salmonella* tiene diferentes serotipos basándose en los siguientes antígenos: somático O, flagelar H y envoltura Vi (responsable de la virulencia de *S. typhi*). El serotipado tiene una gran importancia para la vigilancia en salud pública y el reconocimiento de brotes.

#### **Objetivos:**

Este estudio ha tenido por objetivo analizar durante todo el año 2012 los aislamientos en heces de *Salmonella* en el laboratorio de microbiología del Hospital Universitario Miguel Servet, así como su distribución en los diferentes serotipos.

## Material y métodos:

Estudio descriptivo y retrospectivo de los aislamientos de Salmonella en muestras de heces durante el año 2012.

Las heces se sembraron en agar XLD para aislamiento de Salmonella y Shigella y en caldo de enriquecimiento tetratónico, que se subcultivó en agar HEKTOEN. Además se sembraron en agar CCDA para aislamiento de Campylobacter y agar CIN para aislamiento de Aeromonas y Yersinia. La identificación de las colonias sospechosas por producir H<sub>2</sub>S se realizó por espectrometría de masas MALDI-TOF (Maldi Biotyper, Brucker). El serotipado preliminar se realizó con antisueros comerciales. Posteriormente se enviaron al Centro Nacional de Microbiología en Majadahonda para completar su serotipado.

La sensibilidad antibiótica se realizó por microdilución (MicroScan Walkaway, Siemens).

## Resultados:

Durante el año 2012 se han procesado un total de 6905 coprocultivos con los siguientes resultados:

- Positivos para enteropatógenos habituales: 746 aislamientos (11%)
- Negativos para enteropatógenos habituales: 6159 aislamientos (89%)

Dentro de los positivos se aisló Salmonella en 317 (42.5 %) distribuidos por edad en:

- Adultos: 85 aislamientos (27 %)
- Pediatría: 232 aislamientos (73%)

Los 317 aislamientos de Salmonella se clasificaron según serotipado en:

1. S. enterica subsp enterica I: 313 aislamientos (99%)
  - Typhimurium: 186 aislamientos (59%)
  - Enteritidis: 90 aislamientos (29%)
  - Otras (Infantis, Newport, Pomona, Thompson, Derby, Goldcoast, Typhi, etc): 37 aislamientos (12%)
2. S. enterica subsp salamae II: 2 aislamientos
3. S. enterica subsp arizonae IIIa: 0 aislamientos
4. S. enterica subsp diarizonae IIIb: 1 aislamiento
5. S. enterica subsp houtenae IV: 1 aislamiento
6. S. enterica subsp indica VI: 0 aislamientos

## Conclusiones:

- Dentro de los coprocultivos positivos en el año 2012, Salmonella es uno de los microorganismos causantes de enteritis más frecuentes, con claro predominio en pediatría (73%)
- Los serotipos de Salmonella enterica más frecuentes corresponden al serotipo Typhimurium (59%) y serotipo Enteritidis (29%), siendo mucho menos frecuentes el resto (12%).
- S. typhi sigue siendo inhabitual. Sólo hubo un aislamiento en un paciente pediátrico que cursó sin bacteriemia.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 216**

### SEGUIMIENTO DE PACIENTES COLONIZADOS POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE B-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO MEDIANTE TÉCNICAS DE EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR

*Autor/a/s: María Domínguez, Bernardina; Salvador Lorenzo, María José; Concejo Izquierdo, Xiomara María; Blanco Pozo, Manuela.*

*Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario de Salamanca. Localidad: Salamanca*

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

## Introducción:

La infección adquirida en el hospital, o infección nosocomial, constituye un problema sanitario de primer orden por su prevalencia y por su repercusión en las tasas de supervivencia, complicaciones y tiempo de hospitalización de los pacientes. Con frecuencia se trata además de infecciones causadas por microorganismos multiresistentes (MDR) cuyo tratamiento es complejo. Ello incluye a microorganismos Gram negativos no fermentadores como Acinetobacter baumannii y Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus resistentes a meticilina y enterobacterias productoras de b-lactamasas de espectro extendido (BLEE). En el caso de éstas últimas, el principal mecanismo de transmisión es a través de

las manos del personal sanitario, que se coloniza en el curso de los cuidados a pacientes colonizados o infectados. Una medida esencial para controlar los brotes de infección nosocomial es la identificación de los aislamientos pertenecientes al brote, es decir, con un origen común, con el fin de identificar y aislar a las personas portadoras, ya sean pacientes o personal sanitario. Durante años, esto se llevó a cabo usando técnicas fenotípicas (perfil bioquímico, antibiograma...), cuya especificidad es limitada, por lo que las técnicas moleculares las han desplazado en los últimos años. En términos globales, la técnica molecular de referencia es la electroforesis en campo pulsante (PFGE), pero se trata de una técnica cara, tediosa y que tarda varios días en generar resultados, por lo que, en la rutina diaria, ha sido desplazada por otras técnicas moleculares más rápidas y sencillas (AP-PCR, REP-PCR), aunque la PFGE se mantiene como técnica de referencia en caso de duda.

## Objetivos:

Realizar el seguimiento de un brote nosocomial de K. oxytoca productora de BLEEs mediante REP-PCR.

## Material y Métodos:

Con el fin de controlar un brote de infección nosocomial por K. oxytoca productora de BLEEs, aparecido en el área de Neonatología entre enero y septiembre de 2011, se comenzaron a hacer cultivos fecales de control de los ingresados en la mencionada Unidad. Las muestras eran sembradas en agar MacConkey con ceftazidima o cefotaxima (1 mg/L). En caso de existir crecimiento en estos medios se realizaba identificación y antibiograma (Vitek, bioMérieux, Francia) y se confirmaba la presencia de BLEE por el método de doble difusión. La relación clonal entre los aislamientos se determinó mediante REP-PCR.

## Resultados:

En los meses de duración del brote se detectaron 68 aislamientos de K. oxytoca productores de BLEE. Los 68 aislamientos realizados en este periodo tenían idéntico antibiograma. Sin embargo, el estudio de REP-PCR permitió diferenciar dos grupos de aislamientos con un perfil claramente diferente, que constituían por tanto dos brotes independientes. La localización y aislamiento de los individuos portadores y una mayor incidencia en las medidas de higiene, lavado de manos, etc., permitieron la supresión del brote epidémico.

Conclusiones. Las técnicas de epidemiología molecular son un recurso eficaz en el control de brotes epidémicos nosocomiales. Su utilización permite un mejor seguimiento y control de los mismos.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 231**

### ANTÍGENO DE SUPERFICIE (HBsAg) DE LA HEPATITIS VHB EN EL AÑO 2012 EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DE HIERRO MAJADAHONDA.

*Autor/a/s: Ramos Sierra Leticia, Martín Villarrubia Palmira, Gómez Martínez María Elisa, Reina Company Diana, Hernández Díaz Mario, Colorado Toro Esperanza, Portero Azorín María Francisca.*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DE HIERRO MAJADAHONDA. Localidad: MADRID*

*Correo electrónico del primer firmante: leticia\_ramos\_sierra@hotmail.com*

## Introducción:

El acrónimo HBsAg significa Antígeno de Superficie de la Hepatitis B, también conocido como Antígeno Australia. El HBsAg es el marcador serológico más relevante en el curso natural de la infección por VHB. Consta de una glucoproteína que se inserta en la superficie del Virus de la Hepatitis B y cuando se detecta en el torrente sanguíneo indica infección actual de la Hepatitis B aguda y crónica. Se estima que unos 300 millones de personas en el mundo están afectadas por el virus de la Hepatitis B. El VHB es conocido como agente etiológico causante de Hepatitis crónicas, cirrosis hepática y carcinoma hepatocelular.

## Objetivos:

El objetivo de este estudio es determinar la prevalencia del HBsAg de la Hepatitis B en las muestras realizadas en nuestro Hospital durante el 2012.

## Material y métodos:

Se realizó un estudio retrospectivo de la prevalencia del Antígeno de Superficie de la Hepatitis B en todas las peticiones procesadas en nuestro hospital durante el 2012. Se incluyeron un total de 19.714 muestras correspondientes a 17.819 (87.2%) pacientes. La muestra estándar para este estudio fue suero. Las deter-



minaciones de HBsAg fueron procesadas mediante inmunoensayo por quimioluminiscencia directa (Sistema Advia Centaur-Siemens®)

## Resultados:

El resultado de los 17.189 (87,2%) pacientes fue positivo en 326 pacientes por lo que obtenemos una prevalencia (1,9%). De estos 326 pacientes positivos (64,6%) eran mujeres y (35,4%) varones. Según el país de origen, la mayor prevalencia se encontró en pacientes procedentes del Este Europa (47%) especialmente de Rumania, seguida por los de origen Chino (24%) y de África subsahariana (15%).

## Conclusiones:

- La prevalencia del HBsAg en nuestro hospital fue (1,9%).
- Las peticiones en su mayoría fueron de Consultas 15.267 (88,8%).
- En menores de 15 años no se presentó ningún caso.
- La franja de edad va de 19 a 40 años, siendo el promedio 30 años.
- La infección por Virus VHB es una enfermedad de declaración obligatoria.
- La vacuna frente a Hepatitis VHB se introdujo en el calendario vacunal en nuestra Comunidad Autónoma en 1985 para adolescentes (14 años) y a partir de 1995 a los recién nacidos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 236

## COLONIZACIÓN POR STREPTOCOCCUS AGALACTIAE EN GESTANTES

*Autor/a/s: Reina Company Diana ; Gómez Martínez Elisa; Martín Villarubia Palmira; Ramos Sierra Leticia; Hernandez Diaz Mario; Colorado Toro Esperanza; Muñoz Algarra María.*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario Puerta de Hierro. Localidad: Majadahonda*

*Correo electrónico del primer firmante: diana.reico@hotmail.com*

## Introducción:

La infección por *S. agalactiae* continúa siendo la causa más frecuente de sepsis neonatal de etiología bacteriana. De ahí la importancia de realizar un correcto cribado en la embarazada para predecir la colonización vagino-rectal en el momento del parto. *S. agalactiae* (Grupo B) es un coco gram positivo, beta-hemolítico (95%-97%) y anaerobio facultativo.

## Objetivos:

Conocer el porcentaje de colonización por *Streptococcus agalactiae* en gestantes pertenecientes al Área 6 de Madrid (Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda) y la sensibilidad antibiótica de los aislados.

## Material y Métodos:

Se realizó un análisis de los resultados obtenidos en el cribado de *Streptococcus agalactiae* durante los años 2010-2012 en muestras de orina y de exudado vagino-rectal en gestantes. Las muestras de orina fueron sembradas en medio Granada (Biomérieux®) e incubadas en atmósfera anaerobia y estufa a 35-37°C durante 48 horas. Con el exudado vagino-rectal se procedió de la misma forma sembrando en medio Granada e inoculando, de forma paralela, un caldo de enriquecimiento (Todd Hewitt Maim®) que fue incubado a 35-37°C durante 24 horas para darle posteriormente un pase a Granada e incubación en anaerobiosis durante 48 horas. Se procesaron un total de 16.635 orinas en los tres años y 7.786 exudados vagino-rectales. La sensibilidad de los aislados se realizó mediante sistemas manuales disco-placa y sistemas automatizados de microdilución (Wider Francisco Soria Melguizo® y MicroScan Siemens®) evaluando la sensibilidad a penicilina, eritromicina y clindamicina.

## Resultados:

El porcentaje de *S. agalactiae* aislado en orinas en los años 2010, 2011 y 2012 fue del 11,7%, 10,2% y 10,2% respectivamente. El porcentaje de *S. agalactiae* aislado en exudados vagino-rectales en 2010, 2011 y 2012 fue del 15,1%, 11,3% y 9,5% respectivamente. El 100% de los aislados fue sensible a penicilina, mientras que el 17,6% fue resistente a eritromicina y el 17,2% resistente a clindamicina.

## Conclusión:

El porcentaje medio de *S. agalactiae* aislado en orina en los tres años a estudio fue del 10,5% y en exudado vagino-rectal del 11,7%.

Debido a la alta sensibilidad de los aislados a la penicilina, recomendamos la misma como primera elección para la prevención de la sepsis neonatal.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 242

## ESTUDIO DEL GENOTIPO CIRCULANTE DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN MUESTRAS CERVICALES EN UN HOSPITAL DE AREA DE SEVILLA DURANTE LOS AÑOS 2011 Y 2012.

*Autor/a/s: SIERRA ATIENZA,CELESTINA;ISNARD CARO,LEONARDO JESUS; PARRA-SANCHEZ MANUEL; BERNAL MARTINEZ,SAMUEL;CABEZAS SERRANO, JOSE LUIS;MARTIN-MAZUELOS, ESTRELLA.*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE VALME. Localidad: SEVILLA*

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

## Introducción:

La detección del ADN mediante técnicas de amplificación de ácidos nucleicos en muestras cervicales se considera el método de referencia para el diagnóstico de la infección por el virus del papiloma humano (VPH). De los más de 100 tipos de VPH existentes, el 16 y el 18 están implicados en aproximadamente el 70% de los cánceres cervicales. Nuestro objetivo fue estudiar si existían cambios en la prevalencia de los tipos 16, 18 y alto riesgo (AR) de VPH durante los años 2011 y 2012 en nuestra área.

## Material y métodos:

Se incluyeron en el estudio un total de 1970 exudados cervicales (1028 en 2011; 942 en 2012) recogidos en el cobas® PCR Cell Collection media (Roche). La mediana de edad de las pacientes estudiadas fue de 34 años (rango: 16-73 años). La detección del VPH fue realizada mediante PCR a tiempo real con el equipo cobas® 4800 (Roche) a partir del tubo primario. Este equipo consta del módulo cobas® X 480 para realizar la extracción de ADN y del módulo cobas® Z 480 donde tiene lugar la amplificación y detección. El kit incluye como control interno la propia b-globina humana que se encuentra en todas las células. Este test permite la detección simultánea y por separado del VPH 16, VPH 18 y VPH alto riesgo en conjunto que incluyen los siguientes genotipos: 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68.

## Resultados:

Los resultados obtenidos se resumen a continuación:

	AÑO 2011	AÑO 2012
TOTAL MUESTRAS	1028	949
NEGATIVAS (%)	651 (63,3)	621 (65,4)
POSITIVAS (%)	377 (36,7)	328 (34,5)
- VPH16 (%)	74 (7,2)	63 (6,6)
- VPH18 (%)	13 (1,3)	19 (2,0)
- VPH-AR (%)	224 (21,8)	169 (17,8)
• INFECCIONES MIXTAS		
- VPH16/VPH-AR (%)	51 (4,9)	52 (5,5)
- VPH16/VPH18 (%)	2 (0,2)	2 (0,2)
- VPH18/VPH-AR (%)	11 (1,1)	15 (1,6)
- VPH16/VPH18/VPH-AR (%)	2 (0,2)	8 (0,8)
TOTAL (%)*	66 (17,5)	71 (21,7)

\*: % sobre muestras positivas.

## Conclusiones:

1. El porcentaje de VPH positivos en 2012 con respecto al 2011 ha disminuido un 2,2%. El VPH16 disminuyó en el 2012 un 0,6% y el VPH-AR descendió un 4,0%. Sin embargo, el VPH18 aumentó un 0,7%.
2. Las infecciones mixtas en las muestras positivas del año 2012 aumentaron un 4,2% con respecto al anterior.
3. La prevalencia de VPH16 y/o VPH18 aumentó un 1,8 % en relación al 2011.

# MISCELÁNEA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 008

## DETERMINACIÓN DE ALCOHOLEMIAS MEDICO-LEGALES EN EL AREA SANITARIA DE LUGO

Autor/a/s: OROL MASEDA, SUSANA; LOPEZ LOPEZ, MARIA ISABEL; CASTRO NEIRA, ICIAR; GOY LOPEZ, MARIA CARMEN; BARREIRO CASTRO, BELEN.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Lucus Augusti. Localidad: Lugo

Correo electrónico del primer firmante: sumaseda@gmail.com

### Introducción:

El aumento de la demanda de determinaciones de alcoholemias médico-legales, suscita en nuestro país un debate constante. Se han endurecido las penas, por la Ley de Enjuiciamiento Criminal (Art. 326, Art. 770.3º, Art.796.6º y Art.282) y por una modificación del Código Penal (Art.379.2 mediante LO. 15/07 del 30 de Noviembre), de ahí la necesidad de actualizar los conocimientos por parte del personal sanitario, adecuándolos a la normativa vigente.

### Objetivos:

Mostrar los resultados de las determinaciones de alcoholemia solicitadas al laboratorio durante el año 2012, discerniendo las solicitadas con fines terapéuticos de las requeridas judicialmente

Estos resultados serán utilizados como valor para la aplicación de las posibles consecuencias penales.

### Metodología:

Las muestras de alcoholemia se realizan en sangre total (edta o fluoruro-oxalato) o suero. Se diferencian las destinadas a fines terapéuticos (valor diagnóstico) o para fines judiciales, a las que, se presta especial atención en el seguimiento de la muestra: extracción, transporte, conservación y análisis. Todas las muestras positivas, tanto las reclamadas como prueba judicial, como las no reclamadas, se custodian por un periodo no inferior a un año. Las pruebas judiciales de contraanálisis, se efectúan por cromatografía de gases HP, en el Instituto de Referencia de Medicina Legal, que en nuestra comunidad, se encuentra en la Facultad de Medicina de Santiago de Compostela.

La determinación de etanol en sangre en nuestro laboratorio se realizó en un equipo Dimension Xpan® plus, que utiliza la técnica enzimática de alcohol deshidrogenasa.

### Resultados:

El estudio es retrospectivo, e incluye las determinaciones de alcoholemia realizadas durante el año 2012 en el Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Lucus Augusti de Lugo. Durante este año, fueron realizadas 791 determinaciones de etanol en sangre, de las cuales 20 fueron reclamadas para Custodia Legal por el juzgado y 3 de ellas reclamadas para un contraanálisis. En el 100% de los casos, los valores fueron superiores 0.25 gr/L por lo que superaron el margen legal establecido para ser consideradas como infracción administrativa o legal: 15% (3) infracción administrativa ( $>0.25$ – $<1.2$  gr/L); 85% (17) constitutivas de delito ( $>1.2$ gr/L).

### Conclusiones:

Las alcoholemias con fines judiciales suponen 2.53% del total de las analizadas. Teniendo en cuenta que las consecuencias penales son importantes (los valores  $>1.2$  gr/L en sangre suponen penas de: 3-6 meses de prisión, multa, 31-90 días de trabajos a la comunidad y/o retirada permiso de conducir de 1-4 años), es necesario que el protocolo de extracción y cadena de custodia sea el establecido en la normativa legal, para que el resultado sea válido en todos los casos. En este sentido, es imprescindible que los servicios sanitarios se ajusten a esta normativa, colaborando con la justicia, en lo que se refiere a la extracción, distribución de la muestra y análisis con la técnica de referencia.

Nuestro hospital ha elaborado un protocolo de acuerdo con la normativa legal, que se aplicará a todos los pacientes que acuden al Servicio de Urgencias, a los que se les solicita la extracción y/o recogida de muestras para la determinación de etanol con fines judiciales

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 011

## NUEVOS RETOS DE LA FCT EN EL MODULO DE LABORATORIO DE DIAGNOSTICO CLINICO

Autor/a/s: ISABEL CANDELA ZAMORA, MAR DE ANTONIO DÍAZ, SARA MANSILLA PELLEJERO

Centro de trabajo: HOSPITAL RAMON Y CAJAL. Localidad: MADRID

Correo electrónico del primer firmante: imcanzamora@gmail.com

### Introducción:

La Ley 44/2003, de 21 de noviembre, de ordenación de las profesiones sanitarias, revisada el 24 de abril de 2012; exige en su Título II, Capítulo I. art.º 12, define los principios rectores de la formación de las profesiones sanitarias. El apart. 12.a.- Exige la colaboración permanente entre los organismos de la Administración competentes en materia de educación y de sanidad. En el apart. 12.e.- Marca la necesidad de revisión de las metodologías docentes y las enseñanzas en el campo sanitario, para la mejor adecuación a la evolución de la ciencia y la técnica y a las necesidades sanitarias de la población.

En el Título Preliminar, art. 3, define a las Profesiones del area sanitaria de la formación profesional; incluyendo en su apart. a, Técnicos Superiores en Anatomía Patológica y Citología y Laboratorio de Diagnóstico Clínico entre otras. Así mismo en el apartado 5 de este art. define la necesidad de regular la formación continuada y el desarrollo de éstos.

### Hipotesis de trabajo:

Treinta años de experiencia profesional y más de diez años en contacto con los alumnos de FCT de Laboratorio de Diagnóstico Clínico, me han llevado a realizar una revisión tanto de los programas docentes, actualmente en estudio por la administración, como de la formación que se nos permite dar en los centros de trabajo. Un punto que he valorado es la problemática que ha marcado la separación "administrativa" de las fundaciones de investigación y los laboratorios de función puramente clínica. Esto impide en muchas ocasiones planificar rotaciones que favorezcan la formación integral de los alumnos a las necesidades actuales. El alumno formado en la automatización clínica actual carece de formación en técnicas avanzadas de genética, proteómica, bancos biológicos, y cultivos celulares entre otras técnicas, que actualmente están apareciendo en las ofertas de empleo. Los avances en medicina han vinculado los conocimientos y la experiencia en varias técnicas.

Los nuevos proyectos docentes, en estudio, vinculan la unificación de las titulaciones de Anatomía y Laboratorio; pero manteniendo las mismas horas de prácticas e incluso reduciendo las de Anatomía. Por otro lado los proyectos de formación DUAL, reducen enormemente la formación académica con la que los alumnos acuden a las prácticas y son "una forma barata de tener trabajadores para los centros privados"

### Estudio realizado:

Se ha trabajado en base a las necesidades formativas de los alumnos de 1º y 2º curso de cinco centros de FP, tres públicos y dos privados, que acuden al Hospital Universitario Ramón y Cajal, para realizar sus FCT. Las necesidades planteadas por los alumnos de primer curso se conocieron a partir de las charlas impartidas en sus centros de formación. Las expectativas expresadas por los alumnos de segundo curso se conocían comparando sus necesidades al inicio de las prácticas y lo obtenido al final de las prácticas. Se valoraron: tiempos de rotación en los laboratorios, cantidad de laboratorios por los que se rotaba, atención por parte del personal, grado de integración en el trabajo. Así mismo se valoró la atención prestada por la Institución como centro formativo y la figura del tutor de empresa.

### Resultados:

Se valoraron positivamente la labor de la Institución, del personal, incluido el tutor, la integración en el trabajo, valorándose entre 7-10. Quedaron por debajo de dicha nota los tiempos de rotación y la diversificación de los laboratorios, valorándose entre 6-8. En el campo de sugerencias para cambiar en un futuro se solicitó una mayor formación en laboratorios de genética e inmunología y permitir rotaciones por servicios de investigación que actualmente es una parte importante en las ofertas de empleo disponibles.

## Conclusiones:

1. Elevar a la Administración educativa la necesidad de la adecuación de los programas docentes a las exigencias sanitarias actuales.
2. Seguir manteniendo la exigencia del cumplimiento de las normativas europeas en materia de Formación Profesional o la transformación en grado.
3. ~Posibilitar las rotaciones indistintas en laboratorios de diagnóstico o laboratorios de investigación
- 4.- Aumentar el periodo de prácticas sin que exista por ello una disminución en la formación lectiva.
- 5.- Favorecer desde el puesto de tutor de empresa una mejor formación laboral para los futuros profesionales.

## Bibliografía:

- 1.- La Ley 44/2003, de 21 de noviembre, de ordenación de las profesiones sanitarias, revisada el 24 de abril de 2012
- 2.- Proyecto experimental de formación profesional dual en la Comunidad de Madrid. Curso 2012-13
- 3.- Proyecto de Real Decreto, de, por el que se establece el título de Técnico Superior en Laboratorio Clínico y Biomédico y se fijan sus enseñanzas mínimas. La Ley Orgánica 2/2006
- 4.- INFORME DEL MODELO DUAL DE FORMACIÓN PROFESIONAL EN ALEMANIA-GABINETE TÉCNICO UGT ENSEÑANZA

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 049

### BIOMARCADORES DIAGNÓSTICOS EN PACIENTES CON QUERATOCONJUNTIVITIS ATÓPICA

Autor/a/s: CARMEN GARCÍA-VÁZQUEZ, ERMA TRIAS, VERÓNICA MARTINEZ-TOTTIL, LIDIA COCHO, MARÍA J. GONZALEZ-GARCÍA, MARGARITA CALONGE, AMALIA ENRÍQUEZ DE SALAMANCA

Centro de trabajo: IOBA, INSTITUTO UNIVERSITARIO DE OFTALMOBIOLOGÍA APLICADA. Localidad: VALLADOLID

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

## Introducción:

El objetivo de este trabajo es identificar posibles biomarcadores diagnósticos con la medida en la lágrima de la secreción de citoquinas y quimioquinas, así como la expresión de algunos genes de citoquinas/quimioquinas y sus receptores en el epitelio de la superficie ocular de pacientes con queratoconjuntivitis atópica (QCA).

## Material y Métodos:

Se estudiaron 22 pacientes con QCA y 18 sujetos sanos, los cuales fueron sometidos durante 20 minutos a "condiciones estándar" de 45% de humedad relativa, 22°C y 930mb de presión atmosférica en una cámara de ambiente controlado. Se obtuvieron 4µl de lágrima de un solo ojo de cada individuo y se realizó una citología de impresión conjuntival (CIC) en el mismo ojo. Las muestras así recogidas se mantuvieron a -80°C hasta su análisis. Se analizó con un ensayo multianálito mediante tecnología X-MAP la secreción de 19 citoquinas/quimioquinas: EGF, IL-1RA, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-17A, IP-10, eotaxina 1, fractalkina, IFN-γ, VEGF, TNF-α y RANTES, con un kit comercial HCYTO-60K, 19plex-Milliplex (Millipore Ibérica, Madrid, España). Las muestras fueron incubadas con microesferas conjugadas con anticuerpos anti-citoquinas/anti-quimioquinas humanas durante toda la noche a 4°C. Al día siguiente se realizaron lavados y se incubaron las muestras con anticuerpos biotinilados durante 1 hora en agitación a temperatura ambiente, seguido de una incubación durante 30 minutos con ficoeritrina-estreptavidina. Las muestras se analizaron en un Luminex IS-100 y los resultados obtenidos se interpolaron en curvas estándar, transformando las unidades de fluorescencia en concentración (pg/ml) de citoquinas/quimioquinas. Para la medida de expresión génica de marcadores inflamatorios en la células epiteliales conjuntivales, se extrajo el ARN del material epitelial recolectado mediante citología de impresión conjuntival, se cuantificó y se realizó la transcripción reversa de ARN a ADNc de dicho material. Posteriormente, se hizo un pull con 16 muestras controles y otro con 20 muestras de los pacientes, con 100 ng de ADNc en cada uno de ellos. Después, se analizó la expresión génica mediante PCR cuantitativa (qPCR) de 84 genes con el array "Human Inflammatory Cytokines & Receptors" (SabBioScience, Qiagen, EEUU), en un termociclador Real

time PCR (7500 Real Time PCR System, Applied Biosystems). Los datos se analizaron mediante el método comparativo de Ct, y los resultados obtenidos en los pacientes se expresaron como "fold increase" o "fold decrease" con respecto a la expresión obtenida en el grupo control.

## Resultados:

De las 19 citoquinas/quimioquinas analizadas en lágrima, se detectaron 17 moléculas. Los niveles de IL-5 en lágrima estuvieron significativamente disminuidos ( $p=0,0121$ ) en los pacientes con QCA. Los valores de IL-6 y de IL-1β estaban elevados en los pacientes con QCA, con valores cercanos a la significación estadística ( $p=0,0509$  y  $p=0,0713$ , respectivamente). La disminución observada para la fractalkina en la lágrima de los pacientes con QCA también rozaba la significancia estadística ( $p=0,0971$ ). De los 84 genes analizados en las células epiteliales conjuntivales, se obtuvieron valores medibles de 45 genes, de los cuales IFN-γ, CXCL2, CXCL3, CCL11, CCL24, CCL26, CCR2, CCR3, IL-17C y NAMPT mostraron una expresión relativa aumentada y CCL5, CXCR1, IL-27, LTα y LTβ una expresión disminuida en los pacientes con QCA comparados con los controles sanos.

## Conclusiones:

La expresión de diversas moléculas en lágrima y en epitelio conjuntival se halló alterada en los pacientes de QCA. Estos resultados proporcionan nueva información en el establecimiento de potenciales biomarcadores diagnósticos para esta patología.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 050

### CRIOPRESERVACIÓN DE OVOCITOS EN PACIENTES ONCOLÓGICAS

Autor/a/s: Martínez Fernández, Ana; Jiménez Mahillo, María; Martínez Pérez, María; Agudo Garcillán, David; Pareja Marin, Sandra.

Centro de trabajo: IVI-MADRID. Localidad: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: ana.martinez@ivi.es

## Resumen:

Cada año, sobreviven al cáncer más de 7000 personas menores de 40 años en España, lo que hace que, nos preocupemos por las consecuencias de los tratamientos a los que son sometidos las pacientes (radioterapia y quimioterapia). Siendo, uno de los efectos secundarios de éstos el cese de la función ovárica y el fallo ovárico precoz, y en consecuencia la infertilidad femenina.

En la actualidad, existen diferentes estrategias para preservar la fertilidad en pacientes oncológicas: uso de la aGnRH, la trasposición de los ovarios, la vitrificación de ovocitos, la congelación de tejido ovárico o la maduración in vitro de los ovocitos.

En IVI-Madrid realizamos la vitrificación de ovocitos, para que así, una vez que la paciente haya superado la enfermedad, tenga ovocitos de una calidad óptima para ser fecundados.

## Material y métodos:

En este estudio, hemos evaluado la vitrificación de 63 pacientes que iban a ser tratadas con quimioterapia para preservar fertilidad.

La vitrificación es una técnica de criopreservación ultra-rápida que consigue que el citoplasma de la célula se solidifique en ausencia de cristales de hielo, gracias a las elevadas concentraciones de crioprotectores.

Hasta ahora las posibilidades de criopreservar ovocitos eran por el método de la congelación lenta con un 20% de supervivencia de éstos, frente al 90% que ofrece la vitrificación. Por este motivo, esta técnica se ha empezado a utilizar en pacientes oncológicas.

Las dos limitaciones de ésta técnica son la necesidad de estimulación, retrasando el tratamiento entre 2-3 semanas y el aumento de los niveles de estradiol a causa de la estimulación. Este último es un parámetro a tener muy en cuenta en los cánceres hormonodependientes (como el de mama) ya que la estimulación ha de ser diferente a la habitual, utilizando fármacos inhibidores de la aromatasa.

El sistema para la vitrificación es el cryotop, un dispositivo de mínimo volumen diseñado por Kuwayama consistente en una fina lengüeta de polipropileno en la que se cargan los ovocitos en el mínimo volumen. Posteriormente, son almacenados hasta su uso en un banco de nitrógeno a -196°C.



## Resultados:

Desde el año 2009, en IVI-Madrid, se han vitrificado ovocitos 63 pacientes, con una media de edad de 32,4 años, obteniendo en la punción folicular unos 14 ovocitos/paciente de los cuales son metafase II (aptos para la fecundación in vitro en la actualidad) aproximadamente 9 ovocitos/paciente. El resto de los ovocitos, metafase I y vesículas germinales, son vitrificados, por si, el día de mañana la ciencia avanza y pudiesen ser utilizados. Este tratamiento de vitrificación de ovocitos en pacientes oncológicas es gratuito en todas las clínicas IVI de España.

El 70% de nuestras pacientes sufren cáncer de mama y el 68% del total de pacientes tienen 35 o menos años.

## Conclusión:

Teniendo en cuenta la edad de nuestras pacientes, debemos de concienciar tanto a la sociedad como a los oncólogos de que la preservación de la fertilidad es un aspecto importante en la calidad de vida de las pacientes jóvenes que sobreviven al cáncer. Todas las mujeres han de ser informadas sobre el riesgo del tratamiento del cáncer sobre su fertilidad y se les deben de ofrecer medidas para la preservación de ésta.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 064**

### EVALUACIÓN DE LOS CICLOS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL CONYUGAL EN EL ÁREA SUR DE GRANADA (HOSPITAL SANTA ANA DE MOTRIL)

*Autor/a/s: Eloisa Medina Torres, M<sup>a</sup> Belén Quirosa Moreno, M<sup>a</sup> Elena Rivas Almagro*

*Centro de trabajo: Hospital Santa Ana. Localidad: Motril (Granada)*

*Correo electrónico del primer firmante: Elmap40@hotmail.com*

## Resumen:

La Inseminación Artificial (I.A.), es una técnica de reproducción asistida que consiste en el depósito en el interior del tracto reproductor femenino de los espermatozoides, para acortar la distancia que deben recorrer éstos hasta llegar al ovocito.

El semen no puede introducirse en el útero sin una preparación previa, ya que el eyaculado además de espermatozoides, contiene una serie de sustancias que si se introdujeran en el útero, podrían producir reacciones alérgicas anafilácticas, e infecciones. Por esta razón hay que hacer un lavado de la muestra de semen con el que se eliminan todas estas sustancias, quedándonos sólo con los espermatozoides.

Este proceso de lavado del semen es conocido como Capacitación Artificial espermática, ya que además de eliminar el plasma seminal, produce una serie de cambios en los espermatozoides sin los cuales no serían capaces de fecundar. Por último, cuando se realiza la capacitación artificial de una muestra de semen, se hace una incubación en medios específicos y en condiciones microambientales perfectas para mejorar la movilidad y poder separar y seleccionar los mejores espermatozoides del resto.

## Objetivos:

Evaluar los resultados obtenidos en los ciclos de inseminación artificial realizados en el Hospital de Santa Ana (Motril) en el año 2012.

## Material y métodos:

Se incluyen en el estudio los datos obtenidos de los ciclos de Inseminación Artificial conyugal realizadas en el Hospital Santa Ana de Motril durante el periodo comprendido entre el 1 de Enero de 2012 al 31 de Diciembre de 2012.

Los criterios de inclusión de las parejas para someterse a una Inseminación Artificial son: parejas con esterilidad 1ª o 2ª de más de un año, mujeres menores de 38 años con evidencia de permeabilidad tubárica, recuperación de espermatozoides móviles (REM) superiores a 3 millones y no tener 4 ciclos previos fallidos de Inseminación Artificial.

El método de capacitación espermática es el swim up (los espermatozoides móviles nadan y se separan del resto), los gradientes de densidad (solo los espermatozoides móviles son capaces de atravesar un medio progresivamente más denso) o filtrado en fibra de vidrio (solo los móviles, pueden pasar a través de las fibras y no quedarse atrapados en ellas). Se utilizan como reactivos el Ready Swin, para el lavado, y el Sperm Assist, para la recuperación.

## Resultados:

Se han realizado 55 Capacitaciones de muestras de semen para la realización de Inseminación Artificial Conyugal (IAC). Se han tratado a 20 parejas. Se han conseguido 5 embarazos, lo que supone una tasa de gestación por pareja del 25%. Y la tasa de gestación por ciclo está en torno al 8%.

Uno de los embarazos se obtuvo con una inseminación con REM menor a 5 millones de espermatozoides, y los otros cuatro con REM muy superiores.

La edad de las mujeres de los 5 embarazos, es menor de 40 años.

Cuatro de los cinco embarazos se consiguieron en el segundo ciclo, y uno en el primero.

De los 5 embarazos, en uno se ha producido un aborto, y los otros cuatro siguen su curso.

## Conclusiones:

Las tasas de gestación por ciclo y por pareja, están por debajo de los datos publicados por la SEF (Sociedad Española de Fertilidad-2010), que es del 13% en tasas de gestación por ciclo en menores de 40 años.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 066**

### SISTEMA DE REGISTRO DE INCIDENCIAS PREANALÍTICAS

*Autor/a/s: Aurora Talavera Fraile. M<sup>a</sup> Luisa Crespo Veintimilla. Gloria PedroGómez*

*Centro de trabajo: Laboratorio de Urgencias (A. Clínicos). Localidad: Hospital Arnau de Vilanova. VALENCIA*

*Correo electrónico del primer firmante: aur\_64@hotmail.com*

## Introducción:

Desde los comienzos de la implantación de los sistemas de Calidad en los laboratorios Clínicos, se ha constatado una realidad: La mayor fuente de errores se concentra en la fase preanalítica. Mucho se ha avanzado en este terreno, a lo largo del desempeño del diagnóstico biológico, siempre en aras de mejorar la calidad dispensada y percibida por nuestros usuarios. Dentro de las diversas estrategias diseñadas con este objetivo están los estudios de indicadores de calidad. Estos parámetros evalúan el estado cualitativo en cada momento y permiten la localización de los puntos débiles, así como el seguimiento en el tiempo, y la evaluación de las estrategias de mejora. Para ello se han diseñado programas de evaluación externa de la calidad promovidos por diferentes organismos y sociedades científicas, cuya pretensión es conocer y mejorar nuestros parámetros de calidad Preanalítica. El índice de participación de estos programas es muy inferior que el de los clásicos de Calidad Analítica; seguramente porque la cultura que opera aún prioriza los procedimientos analíticos, como propios, desmereciendo los derivados de la interrelación con el resto del equipo sanitario, donde estamos integrados.

Uno de los inconvenientes que inciden en la desafección de los profesionales a la preanalítica es la falta de un registro de incidencias claro, cómodo y específico. El sistema de registro preanalítico ha de contemplar todos los posibles eventos adversos que pueden presentarse en la rutina de trabajo.

## Metodología:

En nuestro laboratorio hemos desarrollado un procedimiento de recogida de datos preanalíticos informatizado, que tiene como plataforma una plantilla excel configurada explícitamente para esta utilidad.

Se establece por cada fila un episodio a registrar que se identifica con el N° de petición analítica. Éste puede introducirse a través de un escáner de código de barras.

Las columnas inmediatas recogen los datos temporales: Fecha y hora. Que se toman directamente de la memoria Bios del ordenador.

La información posterior se implementa en 4 bloques, que se ilustran en 4 columnas, las cuales hacen referencia a los 4 tipos de errores preanalíticos posibles. Estas son SOLICITUD, IDENTIFICACIÓN, OBTENCIÓN y TRANSPORTE.

Para la descripción del error detectado se utiliza las ayudas en la **Introducción**: de datos, que se configuran previamente según un convenio de códigos. Esto se realiza media la opción de Validación de Datos de las celdas de Excel, que permite incluir mensajes de ayuda para la entrada de datos.



SOLICITUD	IDENTIFICACIÓN	OBTENCIÓN	TRANSPORTE
SR: Solicitud Repetida. Con distinto N°. Dentro de plazo: <24 h Programadas, <6h Urgentes	MSI: Muestra Sin Identificar. Carente de datos de identidad.	MHI: Muestra Hemograma Insuficiente	DET: Demora Excesiva en el Transporte
SD: Solicitud Duplicada. Con mismo N°. 2 impresos de petición y muestras repetidas.	MMI: Muestra Mal Identificada. Datos Imprecisos.	MHC: Muestra Hemograma Coagulada	THR: Tubo Hemograma Roto
SI: Solicitud Inadecuada. Por causa de error en el laboratorio de envío. Por causa de una gestión de solicitud anómala.	EI: Error Identificación. Se comprueba que la muestra no corresponde al titular.	MCI: Muestra Coagulación Insuficiente	TCR: Tubo Coagulación Roto
PND: Prueba No Disponible en la cartera de servicios de laboratorio	2MD: 2 Muestra Distintas con igual N° de identificación. Al menos 1 es incorrecta (EI)	MCC: Muestra Coagulación Coagulada	TBR: Tubo Bioquímica Roto
		MGI: Muestra Gasometría Insuficiente	OD: Orina Derramada
		MOI: Muestra Orina Insuficiente (Sdto.)	GD: Gasometría Derramada
		MBI: Muestra Bioquímica Insuficiente....	LCRD: LCR Derramado
			LBD: L Biológico Derramado
			LCRTN: LCR enviado por Tubo pNeumático.

## Resultados:

Esta plataforma recogió el registro de los errores más frecuentes y permitió la implementación de nuevas categorías según se producían. Las incidencias de OBTENCIÓN de Hemólisis se obtenían por exportación directa de los registros en el SIL, como dato informable que se produce automáticamente a través de los índices séricos (bioquímica) o comentario de rechazo o valoración (coagulación). El resto de eventos empezaron a clasificarse con esta codificación y recogerse en esta plantilla. Obtuvimos tras el análisis estadístico mensual una evaluación de Calidad Preanalítica, en la que se destaca la incidencia de hemólisis en las muestras (Media 20,4%), y sorprende la incidencia de errores de IDENTIFICACIÓN y SOLICITUD (6 y 12% respectivamente). Aunque como parece reflejar el estado global de los Laboratorios Clínicos es en la OBTENCIÓN donde se acumula la casuística (hemólisis y volumen de muestra).

A raíz de la información explotada de éste y los clásicos sistemas de registro SIL, se han diseñado diversas estrategias de mejora en nuestros procesos más débiles: Comisión de Toma de muestras interservicios, Manual de procedimientos en la solicitudes electrónicas, Actualización de la web del Laboratorio, etc.

Todas estas acciones encaminadas a mejorar nuestros indicadores, que ahora podemos conocer y monitorizar.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 075**

## RESCATE DE LOS ZIGOTOS 2-0 MEDIANTE EL EMPLEO DE LUZ POLARIZADA

*Autor/a/s: Adela Rodríguez, Mónica Martínez, Carmen Bou, Eva Huguet, Carlos López-Feijoo, David Cernuda, Fernando Bronet*

*Centro de trabajo: IVI. Localidad: Madrid*

*Correo electrónico del primer firmante: adela.rodriguez@ivi.es*

## Introducción:

En el laboratorio de FIV entre las 16-19 horas después de la microinyección o inseminación de los oocitos se valora la fecundación. Deben presentar dos pronúcleos (PN) masculino y femenino y dos corpúsculos polares (CP), para asumir una correcta fecundación (2-2)

Nos podemos encontrar zigotos con una fecundación anómala: con más PN, con menos o sin PN, estos últimos los consideramos no viables.

Sin embargo, hay casos en los que no se visualizan los PN pero observamos los dos corpúsculos polares y no está claro que estos zigotos 2-0 estén fecundados correctamente.

Mediante el empleo del microscopio de luz polarizada (Oosight) podemos observar la placa metafásica de estos zigotos. Si la placa está en una posición central y sus fibras se encuentran estructuradas en un solo eje, podemos considerarlos correctamente fecundados.

## Material y métodos:

En este estudio se han incluido 225 zigotos 2-0 correspondientes a 130 ciclos, en el periodo comprendido entre el 1 de enero de 2009 al 1 de agosto de 2010.

Para valorar el estado real de fecundación de estos zigotos se ha empleado el Oosight que es un sistema óptico integrado en el microscopio que combina la tecnología del cristal líquido basado en los diferentes índices de polarización de la luz. La imagen refringente del huso meiótico/mitótico se observa con gran claridad en el monitor. Es un sistema no invasivo que no requiere fijación de la muestra.

## Resultados:

De los 225 zigotos 2-0, se han transferido 24 (10.7%), congelado 71 (31.1%) y el resto (58.2%) han sido no viables por bloqueo embrionario. En total se han obtenido 12 recién nacidos vivos (RNV) procedentes de estos zigotos 2-0.

Se realizaron 3 ciclos puros donde sólo se han transferido embriones procedentes de zigotos 2-0. La tasa de gestación e implantación fue del 100% y dieron lugar a 5 RNV.

De los 20 ciclos de congelados, se descongelaron y transfirieron 27 embriones con un 50% de gestación. En 5 casos puros hubo 7 RNV.

## Conclusión:

Gracias a la aplicación de la técnica de luz polarizada hemos rescatado zigotos que de no ser observados con esta técnica se hubieran descartado por no haber podido constatar una correcta fecundación.

La luz polarizada es una herramienta más del laboratorio de FIV que permite optimizar los recursos en el laboratorio y que contribuye a la mejora de los resultados.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 100**

## EL BANCO DE SEMEN ES UNA BUENA OPCIÓN PARA PRESERVAR LA FERTILIDAD EN PACIENTES ONCOLÓGICOS.

*Autor/a/s: Irene de Lucas Aguado, Inés Carreño Pérez, Ana Martínez Fernández, Eva Huguet Gutierrez, Carmen Bou, Fernando Bronet Campos.*

*Centro de trabajo: IVI Madrid. Localidad: Aravaca*

*Correo electrónico del primer firmante: irenedelucas\_aguado@hotmail.com*

## Introducción:

La congelación de semen es una técnica que permite conservar los espermatozoides en nitrógeno líquido a -196° sin perder su capacidad de fecundación. La muestra se congela junto con un crioprotector que evita el daño celular. Está indicada en pacientes oncológicos que vayan a someterse a cirugía, quimio- o radioterapia, pacientes que vayan a someterse a vasectomía, disfunción eréctil, eyaculación retrograda...

Cuando este semen se usa para una Técnica de Reproducción Asistida (TRA), se descongela y se capacita mediante gradientes de densidad, que permiten eliminar el crioprotector y activar los espermatozoides.

## Objetivos:

Valorar la calidad seminal de pacientes oncológicos antes y después de la congelación y el éxito en ciclos de TRA.

## Material y métodos:

Estudio retrospectivo de 95 pacientes oncológicos que congelaron muestra en IVI Madrid entre 2008 y 2012. Se realizó un seminograma antes y después de la congelación y se comparan los resultados con el grupo control compuesto por receptoras de ovocitos cuyas parejas tenían muestra congelada. Los ovocitos provenían de donantes (24 años de media) sin ninguna patología identificada.

Así mismo, se anotó el número de muestras usadas para ciclos de TRA y el resultado del ciclo, frente al grupo control, donde las muestras seminales tenían las mismas características que las de pacientes oncológicos.

## Resultados:

De las 95 muestras analizadas, tanto en fresco como después de descongelar, no encontramos diferencias significativas en cuanto a los parámetros macroscópicos (volumen, concentración y movilidad progresiva) frente a las del grupo control.

Del total de muestras analizadas, solamente 10 han sido utilizadas con fines reproductivos. Las tasas de implantación, gestación y recién nacido vivo (RNV) tampoco difirieron de las del grupo control.

## Conclusiones:

A pesar de que las muestras utilizadas para TRA son escasas (N=10), los resultados muestran que el éxito del ciclo en cuanto a tasa de implantación, gestación y RNV no se ven afectados al compararlo con el grupo control, donde las muestras seminales estaban congeladas y los ovocitos provenían de mujeres jóvenes y con buena calidad ovocitaria.

La congelación de semen puede explicarse por varios motivos. En primer lugar, la espermatogénesis puede verse afectada, e incluso puede no llegar a recuperarse (azoospermia). En el caso de que sí se recupere, estas muestras pueden presentar anomalías tanto a nivel citoplasmático como genético y por tanto, muchos pacientes optan por utilizar la muestra congelada. Se trata, además, de un método eficaz, sencillo y de bajo coste, que permite preservar indefinidamente la fertilidad del varón.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 101

### APLICACIÓN DE NUEVOS CRITERIOS DE LA OMS 2010 EN CUANTO A CALIDAD SEMINAL EN NUESTRA RUTINA DE TRABAJO: COMPARACION DE RESULTADOS CO LOS ANTIGUOS CRITERIOS.

Autor/a/s: Diego Becerra, Adela Rodriguez, Maria Testillano, Manuela Alonso, Fernando Bronet.

Centro de trabajo: IVI MADRID. Localidad: MADRID

Correo electrónico del primer firmante: diego.becerra@ivi.es

## Introducción:

El seminograma es una de las pruebas más importantes a la hora de decidir el tratamiento a realizar en los laboratorios de reproducción asistida. En los últimos años se ha visto reducida la calidad seminal de la población mundial, por ello la OMS decidió revisar los parámetros que marcan la normalidad seminal.

El objetivo de este estudio es ver si con los nuevos parámetros seminales de normalidad de la OMS 2010 se obtienen los mismos resultados de fecundación en ciclos de fecundación in Vitro (FIV) y FIV-ICSI frente a los parámetros de normalidad seminal de la OMS1999

## Material y métodos:

En el estudio se incluyen un total de 4989 ovocitos pertenecientes a 439 parejas de tratamientos de FIV y FIV-ICSI de los cuales 2727 ovocitos fueron destinados a FIV y 1659 ovocitos MII fueron destinados a ICSI todos ellos con semen fresco de paciente.

Se realizaron los siguientes grupos:

\* GRUPO A: Semen  $\leq 20 \times 10^6 \geq 50\%$  SPZ vs  $\leq 15 \times 10^6 \geq 35\%$  SPZ.

\* GRUPO B: Semen  $\leq 20 \times 10^6 \leq 50\%$  SPZ vs  $\leq 15 \times 10^6 \leq 35\%$  SPZ.

\* GRUPO C: Semen  $\geq 20 \times 10^6 \leq 50\%$  SPZ vs  $\geq 15 \times 10^6 \geq 50\%$  SPZ.

\* GRUPO D: Semen  $\geq 20 \times 10^6 \geq 50\%$  SPZ vs  $\geq 15 \times 10^6 \geq 35\%$  SPZ.

## Resultados:

GRUPO A	% FEC FIV	p	% FEC ICSI	p
Semen $\leq 20.106 \geq 50\%$ SPZ	67,56	NS	87,05	NS
Semen $\leq 15.106 \geq 35\%$ SPZ	61,82		76,56	
GRUPO B	% FEC FIV	p	% FEC ICSI	p
Semen $\leq 20.106 \leq 50\%$ SPZ	67.19	0,0422	74,64	NS
Semen $\leq 15.106 \leq 35\%$ SPZ	46.15		81,81	
GRUPO C	% FEC FIV	p	% FEC ICSI	p

Semen $\geq 20.106 \leq 50\%$ SPZ	64.93	NS	77,72	NS
Semen $\geq 15.106 \geq 50\%$ SPZ	61.82		73,33	
GRUPO D	% FEC FIV	p	% FEC ICSI	p
Semen $\geq 20.106 \geq 50\%$ SPZ	62,93	NS	78,29	NS
Semen $\geq 15.106 \geq 35\%$ SPZ	61,25		77,39	

FEC: fecundación

Tan solo encontramos una diferencia en tasa de fecundación de FIV en el Grupo B con Sémenes  $\leq 15 \times 10^6$  y  $\leq 35\%$  de espermatozoides móviles progresivos (SPZ) donde tan solo tenemos una n de 3 pacientes y tuvimos un fallo de FIV el cual se produjo en un primer ciclo de FIV-ICSI con un semen sin fecundación testada

## Conclusiones:

Como no hay una gran correlación directa entre sémenes de mayor calidad vs sémenes de peor calidad con la fecundación obtenida, en nuestro centro la aplicación de los nuevos criterios de normalidad seminal de la OMS 2010 han sido aplicados sin ningún tipo de repercusión clínica.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 126

### COLIRIO DE SUERO AUTÓLOGO PARA USO OFTALMICO.

Autor/a/s: Rodríguez Camacho, María Luisa. Ruiz Ferri, Amparo. Jodar Saez, Isabel. Esteban Rodríguez, Alicia. Guzman Roman, Inmaculada. Domínguez Lomeña, María Jose.

Centro de trabajo: Hospital Comarcal de Melilla. Localidad: Melilla

Correo electrónico del primer firmante: luisazuheros@hotmail.com

## Introducción:

Las lágrimas proporcionan los factores de crecimiento, vitaminas y neuropéptidos responsables de la proliferación, migración y diferenciación de las células del epitelio corneal y conjuntival, además de poseer propiedades antimicrobianas, nutritivas, mecánicas y ópticas. El suero autólogo presenta unas características muy similares a la lágrima en cuanto a pH, osmolaridad, factores de crecimiento y propiedades bactericidas, demostrándose que preserva la integridad de las membranas celulares y tiene mayor efecto sobre la proliferación celular que el obtenido con las lágrimas artificiales. Por ello, para la mayoría de los autores, la aplicación de suero autólogo supera a la terapia sustitutiva con lágrimas artificiales, en el manejo de numerosos procesos que afectan la superficie corneal.

## Objetivos:

- Exponer la técnica de producción de colirio de suero autólogo en nuestro Centro de Transfusión.
- Conocer las características de los pacientes tratados con suero autólogo en nuestro hospital.

## Material y métodos:

Para el 1º objetivo se ha tomado como referencia el procedimiento normalizado de trabajo respecto a la elaboración del suero autólogo. Los datos referentes al 2º objetivo se extraen de un estudio descriptivo de los pacientes incluidos en el programa de colirio de suero autólogo en nuestro hospital en el periodo de Noviembre-09 a Enero-13.

## Resultados:

1.- PRODUCCIÓN DE SUERO AUTÓLOGO: El Servicio de Oftalmología establece la indicación y realiza el seguimiento del tratamiento, siendo el Centro de Transfusión el responsable de la extracción, preparación, análisis y dispensación del colirio.

Técnica (en campana de flujo laminar):

- Obtención del suero autólogo: extraer 10ml de sangre sin anticoagulante, dejando coagular a Tª ambiente 3 horas, con posterior centrifugación (2.500 rpm/15 minutos) y decantación del suero.
- Preparación de suero autólogo diluido al 20%: pipetear 1 ml de suero decantado en un bote de colirio esterilizado, añadiendo 4 ml de suero fisiológico.
- Cada extracción al paciente deberá garantizar 25 ml de suero para la producción de 25 colirios (1 colirio para cultivo microbiológico y 24 colirios para dispensar al paciente). La dispensación se hace en 2 entregas (12 colirios cada una), per-

mitiendo un ciclo de tratamiento aproximado de 6-8 meses. Los colirios deben almacenarse congelados.

d) A todos los pacientes se les realiza igualmente un screening infeccioso (ELISA VIH, VHC, HBsAg, RPR, PCR-VIH+VHC+VHB).

2.- CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES: Durante el periodo evaluado, se han incluido un total de 64 pacientes (21/31.8% hombres y 43/67.2% mujeres), con edades comprendidas entre 31 y 94 años, siendo 11 pacientes (17.2%) menores de 50 años y 53 pacientes (82.8%) con edad mayor o igual a los 50 años. Las indicaciones para su uso se describen en la tabla 1. De la totalidad de pacientes incluidos en el programa, 12 (18.8%) son baja como consecuencia de la pérdida de seguimiento en el Servicio de Oftalmología, 26 pacientes (40.6%) se mantienen en activo (el 42.3% por ojo seco) y 26 pacientes (40.6%) son excluidos del mismo a criterio de Oftalmología. Ningún paciente fue excluido en relación a las pruebas serológicas de cribaje o por positividad del cultivo microbiológico. Solo uno de los pacientes abandonó el tratamiento al referir molestias en relación a la aplicación del mismo. La duración del tratamiento en 38 pacientes (59.4%) es de al menos 6-8 meses (1 ciclo completo de tratamiento). En 19 de los 26 pacientes (73%) excluidos del tratamiento, no se llegó a completar un ciclo de tratamiento.

PATOLOGIAS	Nº DE PACIENTES (%)
Defectos epiteliales persistentes por diversas patologías	25 (39)
Ojo seco	19 (29.8)
Erosiones corneales recurrentes	10 (15.6)
Otras patologías	10 (15.6)

#### Conclusión:

La técnica de producción del CSA al 20% es sencilla, permitiendo una única extracción al paciente un tratamiento a largo plazo. La pruebas serológicas de cribaje no difieren de las utilizadas en la donación sanguínea alogénica.

Las indicaciones se correlacionan con lo comunicado en la literatura, siendo el síndrome por ojo seco el que mayor beneficio obtiene con el suero autólogo como alternativa o complementario a las lágrimas artificiales en nuestra casuística. Se ha demostrado un tratamiento seguro, sin reacciones adversas destacables en relación a su uso, aunque con una alta tasa de excluidos, muchos de ellos probablemente en relación a un mal cumplimiento terapéutico.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 143**

#### ESTUDIO COMPARATIVO DE LA CONCENTRACIÓN DE LOS ESPERMATOZOIDES ENTRE UN MÉTODO MANUAL Y OTRO AUTOMÁTICO

*Autor/a/s: Niubó Portis, Antonia; Alcalá Hernica, Cristina; Sancho Capellán, Lucía; Romero Gutiérrez, Carmen; Fontiveros Sanchez, M. Carmen; Valls Guallar, Teresa; Pérez Hernández, Emilia*

*Centro de trabajo: Laboratori Clínic L'Hospitalet. Localidad: L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona)*

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

#### Introducción:

El método de referencia para el recuento de espermatozoides, siguiendo criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS), es el manual; no obstante en nuestro laboratorio se realiza mediante el sistema automático Sperm Class Analyser® (SCA).

La concentración espermática es el número de espermatozoides por ml de muestra seminal y su valor de referencia es de  $\geq 15 \times 10^6/\text{ml}$  (5ª edición, 2010). Las muestras inferiores a dicha concentración se denominan oligozoospermias.

#### Objetivo:

Evaluar si son transferibles los resultados de muestras oligozoospermicas realizadas entre un método manual y otro automático.

#### Material y métodos:

Se analiza 98 muestras oligozoospermicas de semen de estudio de fertilidad, en el periodo de octubre 2012 a enero 2013, procedentes de atención primaria. Se realiza un recuento manual mediante Método Neubauer OMS 1999 y otro automático con el programa informático SCA; en ambos métodos se utiliza un microscopio en contraste de fases.

El estudio estadístico se hace mediante el procedimiento de regresión lineal de Passing Bablok que establece la concordancia de resultados:

obteniendo el intervalo (IC) del 95% para el valor de la pendiente (a) y el valor de la ordenada en el origen (b); si incluye el 1 y el 0 respectivamente se considera que los resultados son transferibles. Cuando la pendiente no incluye el 1 significa que hay diferencias de tipo proporcional y cuando la ordenada no incluye el 0 presentan diferencias de tipo constante.

#### Resultados:

Se calculan en dos grupos diferentes de concentración ( $10^6/\text{ml}$ ):

Grupo A, (5 – 15).  $a = 0,92$  [0,809 a 1,029];  $b = 0,44$  [-0,60 a 1,49];  $n = 32$ ;  $r = 0,944$

$y = 0,92x + 0,44$

Grupo B, (< 5).  $a = 0,825$  [0,741 a 0,909];  $b = 0,15$  [-0,02 a 0,24];  $n = 66$ ;  $r = 0,913$

$y = 0,825x + 0,15$

( $n = n^\circ$  de muestras;  $y$ : m. automático;  $x$ : m. manual;  $y = ax + b$ ;  $r$  = coeficiente de correlación)

#### Conclusiones:

El método automático es un buen método de medida para la concentración espermática ya que:

1. Presenta una alta concordancia con el método manual. Resultados de la concentración de espermatozoides entre ambos métodos son transferibles en el intervalo entre 5 a 15 ( $10^6/\text{ml}$ ); en concentraciones inferiores a 5 no existen diferencias de tipo constante pero sí de tipo proporcional.
2. Los resultados obtenidos automáticamente en todo el intervalo del estudio son inferiores a los manuales. El método automático presenta más alta sensibilidad diagnóstica.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 165**

#### ¿MEJORAN LAS A Y B GLOBULINAS LA TASA DE BLASTOCISTO? NUESTRA EXPERIENCIA EN IVI MADRID

*Autor/a/s: María Testillano, David Cernuda, Diego Becerra, David Agudo, Fernando Bronet.*

*Centro de trabajo: IVI MADRID. Localidad: MADRID*

*Correo electrónico del primer firmante: maria.testillano@ivi.es*

#### Introducción:

En cada ciclo de reproducción asistida se intenta transferir el mejor embrión. En día 3 de desarrollo, con más de 3 embriones de buena calidad nos planteamos la posibilidad de posponer la transferencia hasta el estadio de blastocisto y así conseguir diferenciar el/los de mejor calidad y aumentar la tasa de embarazo. A lo largo del tiempo, en nuestro laboratorio, se han utilizado diferentes medios de cultivo, observando la repercusión que tiene cada uno de ellos en los casos de cultivo largo.

El objetivo de este estudio es comparar la tasa de blastocisto total (TBT) y la tasa de blastocisto de buena calidad (TBBC), en función del tipo de medio.

#### Material y métodos:

Queremos comparar dos tipos de medios de la misma casa comercial, por una parte medio suplementado con Albúmina Humana LGPS con y globulinas (GLOBAL TOTAL "GT"), y por otra parte medio que es necesario suplementar al 10% con HSA (GLOBAL "G"). En pacientes que se sometieron a ciclos de FIV, ICSI, FIV/ICSI o donación de ovocitos en IVI Madrid entre Noviembre de 2011 y Noviembre de 2012.

Se incluyeron 9992 ovocitos que se dejaron en desarrollo hasta día 5, fueron separados en dos grupos, medio GT (4656) y medio G (5336).

Por otra parte diferenciamos por edades las pacientes sometidas a ciclos de FIV, ICSI Y FIV/ICSI en tres grupos; las de  $\leq 35$  (2959 ovocitos), con medio GT (1291) y G (1304), de 36-38 (1831 ovocitos) con GT (738) y G (1093), y las de  $\geq 39$  años (1001 ovocitos), 431 y 570 con medio GT y G respectivamente.



## Resultados:

Comparando ambos medios, pudimos observar como con GT tuvimos una TBT de 60,0% y con G fue de un 55,2%,  $p$ -valor=0,0002, y una TBBC de 43,3% con GT y de 36,4% con G,

$p$ -valor=<0,0001. Estas diferencias resultaron estadísticamente significativas.

Al diferenciar por edades en el grupo de ovocitos propios obtuvimos que, en pacientes  $\leq 35$  con GT la TBT fue de 62,0% frente a un 58,2% con G,  $p$ -valor=0,0481 y una TBBC de 45,2% en GT y un 40,8% con G,  $p$ -valor=0,0236. En las pacientes con edades comprendidas entre 36 y 38 años, la TBT fue de 56,9% con GT y de 50,3% con G,  $p$ -valor=0,0055 y la TBBC 37,80% con GT, mientras que con G fue de 31,6%,  $p$ -valor=0,006. Y por último en las pacientes de  $\geq 39$  años la TBT fue 47,6% con GT y con G 45,3%,  $p$ -valor=0,469 y la TBBC de 31,8% con GT mientras que con G fue de 21,4%,  $p$ -valor=0,0002. Obtuvimos diferencias significativas en todos los casos excepto en la TBT en pacientes  $\geq 39$  años.

## Conclusiones:

Con el medio suplementado con  $\alpha$  y  $\beta$  globulinas (GLOBAL TOTAL) se consigue una tasa de llegada a blastocisto y una tasa de blastocistos congelados y transferidos, mayor que con el medio (GLOBAL) que se suplementa con HSA. Con lo que concluimos que las globulinas añadidas al medio ayudan a aumentar la formación y la calidad de los blastocistos, considerándolos óptimos para

congelar o transferir.

Al separar por edades observamos que el mayor beneficio lo encontramos en pacientes  $\geq 39$  años, algo que ya pudimos observar al realizar cocultivo o al eliminar el hapes del medio de cultivo, por lo que podemos concluir que las pacientes de edad materna avanzada son las que más se benefician de la optimización de los medios.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 166**

### EFFECTO DE LA INSULINA EN CÉLULAS DE MUSCULO LISO VASCULAR: ESTUDIO DE CÉLULAS HUMANAS, MURINAS Y MODELOS ANIMALES.

*Autor/a/s: LAURA NÚÑEZ, ÁNGELA VINUÉ, MARIA JESÚS SANZ, DEBORAH J BURKS, HERMINIA GÓNZALEZ-NAVARRO*

*Centro de trabajo: FUND INV HOSP CLIN VAL-INCLIVA. Localidad: VALENCIA*

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

## Resumen:

La resistencia a insulina (RI) promueve el desarrollo de aterosclerosis y la generación de placas ateromatosas vulnerables favoreciendo su rotura y los eventos agudos (trombosis, infarto de miocardio, ictus). La disminución en la viabilidad de las células de músculo liso vascular (cMLVs) contribuye a la formación de placas ateromatosas vulnerables ya que reduce el grosor de la capa fibrosa que protege de la ruptura de la placa. Los mecanismos moleculares precisos de cómo la RI afecta a la viabilidad de las cMLVs en la generación de placas ateromatosas vulnerables están poco esclarecidos por lo que su investigación es de gran relevancia para la identificación de biomarcadores y búsqueda de medidas preventivas.

## Objetivos:

El objetivo del presente estudio fué investigar el efecto de la RI en la supervivencia, la proliferación y la apoptosis, de las cMLVs in vitro e in vivo. Además se estudió el efecto de la RI en la expresión del eje inflamatorio CX<sub>3</sub>CR1-CX<sub>3</sub>CL1 previamente descrito como proaterogénico.

## Materiales y métodos

Para los estudios in vitro se utilizaron cMLVs de aorta humana y para los estudios in vivo se investigó un modelo murino que exhibe RI y aterosclerosis (ratones deficientes en la apolipoproteína E y parcialmente deficientes para el sustrato 2 del receptor de la insulina Irs2, ratones apoE<sup>-/-</sup>Irs2<sup>+/-</sup>). Para estudiar la RI en cMLVs de aorta humana se silenció el gen Irs2 con la técnica de silenciamiento con siRNA. En cMLVs la proliferación fue evaluada mediante la incorporación de BrdU e inmunofluorescencia y la apoptosis, inducida con luz ultravioleta u óxido nítrico, se analizó por citometría de flujo. Para los estudios in vivo se analizaron secciones transversales del nacimiento de la aorta de ratones controles apoE<sup>-/-</sup> y apoE<sup>-/-</sup>Irs2<sup>+/-</sup>. El análisis de la proliferación y la apoptosis de cMLVs in vivo en la lesión se estudió mediante inmunofluorescencia anti-SM- $\alpha$ -actin Cy3/anti-Ki67 y anti-SM- $\alpha$ -actin Cy3/forma procesada de la caspasa 3. Además se determinó la vulnerabilidad de la placa de ateroma en los ratones mediante el análisis del

tamaño del core necrótico. Los estudios de expresión se realizaron en mRNA de cayado aórtico de ratones apoE<sup>-/-</sup> y apoE<sup>-/-</sup>Irs2<sup>+/-</sup> y mRNA de cMLVs humanas. Para ello se analizaron los niveles de expresión del mRNA de los genes CX<sub>3</sub>CR1 y CX<sub>3</sub>CL1 con técnicas de retrotranscripción y PCR en tiempo real utilizando cebadores específicos para los genes humanos y murinos.

## Resultados:

La RI en cMLVs de aorta humana inducida mediante silenciamiento del gen Irs2 con siRNA reduce la supervivencia celular demostrada como una disminución en la proliferación ( $p<0.02$ ) y un aumento de la apoptosis ( $p<0.01$ ). Además, el análisis in vivo mostró una disminución de la proliferación ( $p<0.05$ ) y de la apoptosis ( $p<0.04$ ) en las cMLVs de la placa de ateroma de ratones apoE<sup>-/-</sup>Irs2<sup>+/-</sup>, comparado con controles apoE<sup>-/-</sup>. Además, los ratones apoE<sup>-/-</sup>Irs2<sup>+/-</sup> exhibieron un aumento en el área del core necrótico ( $p<0.05$ ). Los estudios de expresión demostraron que la RI inducida mediante silenciamiento del gen Irs2 en las cMLVs produce un aumento significativo de la expresión de la quimiocina CX<sub>3</sub>CL1 ( $p<0.04$ ) y de su receptor CX<sub>3</sub>CR1 ( $p<0.04$ ). Consistente con estos resultados, se observó un aumento significativo en el mRNA del cayado aórtico de los genes del eje inflamatorio CX<sub>3</sub>CR1-CX<sub>3</sub>CL1 ( $p<0.002$ ) en ratones apoE<sup>-/-</sup>Irs2<sup>+/-</sup> comparado con controles apoE<sup>-/-</sup>.

## Conclusiones:

La RI inducida mediante reducción en la expresión de Irs2 disminuye la supervivencia de las cMLVs in vivo e in vitro, debido a un aumento de la apoptosis y una disminución de la proliferación. La disminución en la funcionalidad en la RI se correlaciona con un aumento del eje inflamatorio CX<sub>3</sub>CR1-CX<sub>3</sub>CL1 en las cMLVs en cultivo y en cayado aórtico de ratones con aterosclerosis y RI. Además en los ratones con RI se observa un aumento del tamaño del core necrótico indicando que las placas son más vulnerables. Estos resultados indican que una alteración en el balance de las cMLVs en las lesiones ateromatosas inducida por RI promueve la generación de placas vulnerables e induce la expresión de biomarcadores inflamatorios asociados a inestabilidad de la placa. Por lo que la modulación de la expresión de Irs2 en cMLVs puede ser una estrategia terapéutica destinada a la estabilización de placas vulnerables mediante la modulación del eje inflamatorio CX<sub>3</sub>CR1-CX<sub>3</sub>CL1.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 174**

### RECEPTOR DE ÁCIDO HIALURONICO RHAMM COMO POSIBLE BIOMARCADOR DE ENFERMEDADES INFLAMATORIAS DE LA SUPERFICIE OCULAR.

*Autor/a/s: Antonio López-García, Laura García-Posadas, Margarita Calonge, Yolanda Diebold.*

*Centro de trabajo: Instituto de Oftalmobiología Aplicada. Localidad: Valladolid*

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

## Introducción:

Nuestro grupo de trabajo está buscando nuevas estrategias terapéuticas que puedan curar o, al menos, detener la progresión de las enfermedades inflamatorias de la superficie ocular (SO). Se trata de enfermedades prevalentes, que afectan aproximadamente a un 15% de la población en algún grado y que conducen a un empobrecimiento de la calidad de vida. Cada vez hay más moléculas cuyas alteraciones en los niveles de expresión (tanto disminución como incremento) se relacionan con la patogenia de las enfermedades inflamatorias oculares. Nuestro grupo ha demostrado recientemente (García-Posadas et al., 2012) la presencia de un tipo de receptor de ácido hialurónico, concretamente el receptor para la motilidad mediada por ácido hialurónico (RHAMM), en células epiteliales de conjuntiva humana normales e inflamadas. El propósito de este estudio piloto es determinar si RHAMM está implicado en las enfermedades inflamatorias de la superficie ocular.

## Material y métodos:

Se emplearon muestras epiteliales procedentes de conjuntiva de donantes sanos ( $n = 14$ ) y pacientes con inflamación activa ( $n = 26$ ), que fueron obtenidas por citología de cepillado conjuntival (CCC) de la zona tarsal superior. Esta es una técnica indolora y mínimamente invasiva de obtención de células de la SO. Este estudio siguió los principios de la Declaración de Helsinki y los pacientes firmaron un consentimiento informado. Previamente a la recogida de la muestra los pacientes fueron evaluados por un oftalmólogo y clasificados en diferentes grupos, de



acuerdo a la etiología de su problema inflamatorio (inmune-alérgica, inmune-no-alérgica o no inmune), y al grado de intensidad de la inflamación (leve/moderada o severa). Además, se compararon en diferentes grupos de edad y sexo.

Las células obtenidas mediante CCC se adhirieron a un porta objetos mediante citocentrifugación. La expresión proteica de RHAMM se evaluó mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta, usando como anticuerpo primario goat anti-RHAMM E-19, a una dilución de 1:100, y como anticuerpo secundario se usó donkey anti-goat conjugada con Alexa fluor 647, en dilución de 1:200. También se extrajo el ARN en parte de las muestras de CCC mediante el Kit RNeasy Mini (Quiagen). La expresión génica de RHAMM se estudió en todas las muestras mediante RT-PCR a tiempo real (RT<sup>2</sup>-PCR) empleando un primer comercial. Se realizó un análisis ANOVA para determinar la significación estadística de las diferencias encontradas. Se consideró como significativo un valor de  $p \leq 0.05$ .

## Resultados:

Se observó inmunofluorescencia frente a RHAMM en todas las muestras analizadas de donantes sanos. El patrón de expresión que presentaba era fundamentalmente citoplasmático, con una mayor distribución perinuclear. Este patrón fue el mismo en todos los casos, independientemente de la edad o el sexo.

No se encontraron diferencias a nivel de ARN en función de la edad o el sexo. Sin embargo, los niveles de ARN fueron significativamente diferentes entre los controles sanos y todos los grupos con inflamación severa. Se detectó un aumento del 300% en los niveles de RHAMM en pacientes alérgicos ( $p < 0,001$ ), una disminución del 30% en inmunes no alérgicos ( $p = 0,025$ ) y una disminución del 75% en no inmunes ( $p = 0,001$ ).

## Conclusiones:

De acuerdo con nuestros resultados, el receptor de ácido hialurónico RHAMM podría estar implicado en la inflamación severa de la superficie ocular que afecta, al menos, a la conjuntiva tarsal superior. Por ello, se concluye que RHAMM podría ser utilizado como biomarcador clínico y/o diana terapéutica de la inflamación de la superficie ocular.

Financiación: FEDER-CICYT MAT2010-20452 CO3-01 y Programa de Becas FPI (Ministerio de Ciencia e Innovación, España) y Proyecto de la Junta de Castilla y León VA132A11-2.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 177

## PRINCIPALES MOTIVOS DE CRIOPRESERVACIÓN ESPERMÁTICA EN EL LABORATORIO DE ANDROLOGÍA

Autor/a/s: *Losa Jover Beatriz, Sellés Soriano Elena, Salinas Iniesta Noelia, Martínez Díaz- Jimenez Elena, Muñoz Cantero Manuel*

Centro de trabajo: *IVI (Instituto Valenciano de Infertilidad). Localidad: ALICANTE*

Correo electrónico del primer firmante: *beatriz.loso@ivi.es*

## Introducción: y Objetivos:

La técnica de criopreservación espermática tiene como finalidad la conservación y mantenimiento de dosis seminales a bajas temperaturas en nitrógeno líquido ( $-196^{\circ}\text{C}$ ) para su posterior utilización en reproducción asistida permitiendo la utilización de este material cuando proceda o se requiera en el futuro. Los pacientes que recurren a esta técnica suelen ser aquellos en los que: se necesite disponer de varias muestras por seguridad cuando ésta es de mala calidad; se sospeche de dificultad de recogida de muestra el día de la punción folicular o inseminación de la pareja por problemas nerviosos que pueden originar algún tipo de bloqueo; cuando el varón no puede asistir a la clínica el día de la punción folicular o inseminación; en los casos en los que se ha realizado una biopsia testicular o aspiración de epidídimo; en pacientes incluidos en un tratamiento con donación de ovocitos por si el día de la ovodonación el varón no puede acudir a la cita a dejar muestra; previo a tratamientos de quimioterapia o radioterapia para preservar la fertilidad futura; previo a vasectomía. Es por ello que este estudio trata de ver cual es el motivo que genera más congelaciones de semen en nuestro centro y analizar si la causa justifica su frecuencia.

## Material y métodos:

Se evaluaron todos los motivos de los 1108 pacientes que congelaron semen desde el 2006. A todas las muestras se les realizó un espermiograma previo en los que se valoró el volumen, aspecto, pH, concentración, movilidad y morfología. Después se procedió a congelar el semen mediante la técnica de congelación

lenta y utilización de crioprotectores que contienen glicerol. Según el diagnóstico o causa previa conocida a la congelación se clasificaron los motivos de criopreservación de semen en nuestro centro en: esterilidad geográfica (imposibilidad de presencia el día de la punción o inseminación), mala calidad seminal (oligozoospermia severa, astenozoospermia severa, criptoospermia), ovodonación, problemas nerviosos (que originan bloqueo en la recogida seminal), biopsia testículo (cuando los espermatozoides procedían de tejido o aspirado testicular), vasectomía, preservación de la fertilidad por cáncer y otros (lavados seminales por HCV o VIH, a petición del paciente sin indicación, etc.).

## Resultados:

En la tabla se detalla en que porcentaje se congela semen según el motivo, donde se observa que el 63,8% de las congelaciones se realizan por el tratamiento de ovodonación siendo el motivo más frecuente y sólo un 0,67% se congela por vasectomía.

MOTIVO	N	%
Ovodonación	707	63,8
Mala calidad seminal	184	16,6
Biopsia de testículo	91	8,21
Esterilidad geográfica	45	4,05
Otros	35	3,15
Preservación de la fertilidad por cáncer	24	2,16
Problemas nerviosos	15	1,35
Vasectomía	7	0,67

## Conclusiones:

El motivo que genera más congelaciones en nuestro centro con fines reproductivos es por el tratamiento de ovodonación a pesar de que no todos los pacientes necesitan utilizar esta muestra congelada para el tratamiento. En cambio, es importante destacar el bajo número de congelaciones que se producen cuando el motivo es un padecimiento de cáncer y tienen que someterse a tratamiento de quimioterapia o radioterapia que pueden originar una infertilidad desde transitoria a definitiva, y sólo un 2,16% de las congelaciones en nuestro centro han sido por este motivo, cuando éste podría ser mayor ya que la técnica de congelación espermática puede aportarle grandes beneficios de cara a su fertilidad futura y además va a tener un importante papel en la calidad de vida del paciente curado. Por lo que sostenemos que este bajo porcentaje puede ser la insuficiente información que sigue habiendo aún en el servicio de oncología. Y finalmente, añadir que lo mismo ocurre con las vasectomías donde el número de congelaciones también es poco frecuente, ya que nos encontramos muchos casos en nuestro centro de varones que buscan gestación en distinta pareja y por no haber congelado una muestra antes de la intervención se han de someter a otra para la obtención de espermatozoides del testículo mediante biopsia.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 191

## CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LAS CABINAS DE LABORATORIO DE FARMACIA DEL AREA GENERAL DEL HOSPITAL VALL D'HEBRON

Autor/a/s: *Hernández Santos Lorena; Coronado Alcántara Sheila; Bosch Gómez Ignasi; Alacio Palomo Yolanda; Fernández Bejarano Ricardo*

Centro de trabajo: *HOSPITAL VALL D'HEBRON. Localidad: BARCELONA*

Correo electrónico del primer firmante: *lhernandez001@gmail.com*

## Introducción:

En el área de muestras intravenosas del servicio de farmacia del Hospital Vall D'Hebron se realizan una serie de determinaciones para poder garantizar la eficacia de la limpieza, desinfección y entorno estéril de las cabinas de flujo de aire laminar comprobando de esta manera la ausencia de contaminación. El personal del servicio de farmacia es el responsable de realizar los controles microbiológicos del entorno de la cabina así como la preparación de una muestras terapéuticas de los productos elaborados en ella para su posterior análisis microbiológico.

## Objetivo:

Dar a conocer el procedimiento de las medidas de calidad a realizar para garantizar la correcta esterilización del área de trabajo del laboratorio de farmacia para poder después administrar la medicación al paciente sin que exista riesgo de contaminación.

## Material y métodos:

El control microbiológico de las cabinas se realiza dos veces a la semana como mínimo aunque dicho tiempo puede variar según crea conveniente el personal facultativo.

Control por sedimentación en placa:

Es necesario el uso de placas de agar-sangre como medio de cultivo para la posterior comprobación de crecimiento bacteriano: un número determinado de placas en exposición para cada cabina en función si se tratan de cabinas de flujo de aire horizontal o bien vertical (seguridad biológica).

1. En el área general existen dos cabinas de flujo laminar horizontal a las que denominaremos A y B. También disponemos de dos cabinas de flujo laminar vertical en el laboratorio de farmacia oncológica que denominaremos C y D.
2. Se debe rotular cada placa por debajo con el nombre asignado a cada cabina. Para garantizar que las placas no pueden abrirse durante el trayecto las sellamos con Parafilm®. Las placas se derivan al Servicio de Microbiología junto con las solicitudes de análisis microbiológicos correspondientes.
3. Con la cabina en funcionamiento se introducen las placas d tapadas tal como se indicará a continuación. Después se abren y se dejan expuestas durante una hora mientras se realiza el trabajo diario del laboratorio. La placa control siempre se mantendrá cerrada.

A.—Cabina de flujo laminar horizontal

Las placas se colocan de la siguiente manera: 3 placas colgadas en la barra de la cabina enfrentadas al flujo en diferentes niveles ( placas de la 1 a la 3), 2 placas en la superficie de trabajo y 1 placa de control fuera de la superficie de trabajo.

B.—Cabina de flujo laminar vertical

Las placas se colocan de la siguiente manera 4 placas en la superficie de trabajo y 1 placa fuera de la superficie de trabajo.

Las placas se cierran dentro de la cabina apiladas y sujetas con celo y posteriormente colocarlas dentro de una bolsa mixta donde se realiza el sellado. Las placas se derivan al Servicio de Microbiología junto con las solicitudes de análisis microbiológicos correspondientes.

## Resultados:

Se realiza mediante su validación. En el área general se hacen coincidir los días que se realiza el control microbiológico de las cabinas.

1.—Cabina de flujo laminar horizontal:

- 1.1 Los resultados de las placas de agar-sangre que validan el entorno estéril del interior de las cabinas a lo largo de los últimos seis meses (junio 2012-enero 2013) son los siguientes:

(ADJUNTAREMOS TABLA CON LOS DATOS OBTENIDOS DURANTE DICHOS 6 MESES)

Supone un total de 638 cultivos de agar-sangre realizados de los cuales 13 presentaron un crecimiento bacteriano de una UFC. Representan el 2,03% del total. El 97,97% restante era totalmente estéril.

- 1.2 Muestras terapéuticas de producto finalizado ( mezclas de nutrición parenteral) ADJUNTAREMOS TABLA CON LOS DATOS OBTENIDOS DURANTE DICHOS 6 MESES)

Supone un total de 110 muestras terapéuticas de mezclas de nutrición parental que dieron totalmente negativas en crecimiento bacteriano. Se obtiene un resultado de 100% esterilidad en el producto.

2.—Cabina de flujo laminar vertical:

- 2.1 Los resultados de las placas de agar-sangre que validan el entorno estéril del interior de las cabinas a lo largo de los últimos seis meses (junio 2012-enero 2013) son los siguientes:

ADJUNTAREMOS TABLA CON LOS DATOS OBTENIDOS DURANTE DICHOS 6 MESES)

Supone un total de 327 cultivos de agar-sangre realizados de los cuales 8 presentaron un crecimiento bacteriano de una UFC. Representan el 2,44% del total. El 97,56% restante era totalmente estéril.

2.2 Muestras terapéuticas de producto finalizado

La muestra terapéutica será una muestra endovenosa sin citoestático. Se preparará en un frasco al vacío añadiendo unos 20 ml de suero glucosalino al 5% que esté pinchado directamente desde el equipo de goteo y de 5-10ml de diluyente sin conservante (agua para inyección, suero fisiológico o bien glucosado 5%). En

ninguna muestra se obtuvo crecimiento bacteriano obteniendo un resultado de un 100% de esterilidad.

## Conclusiones:

- Las muestras terapéuticas de los productos finalizados son todas negativas. Se puede asegurar la calidad microbiológica del producto que llega al paciente.
- Las placas de agar-sangre de las cabinas de flujo presentan un índice muy bajo de contaminación bacteriana consiguiendo aproximadamente un 98% dentro de margen aceptado de esterilidad del entorno de nuestras cabinas.≤

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 207**

## INTERFERENCIA ANALÍTICA POR EXTRACCIÓN DE MUESTRAS SANGUÍNEAS DE UNA VÍA INTRAÓSEA, A PROPÓSITO DE UN CASO

*Autor/a/s: Busquets Carmona, Nuria; Armeijach Guijosa, Marta; Rodríguez García, Cristina; Candás Estébanez, Beatriz.*

*Centro de trabajo: Laboratorio Clínico. UDIAT. Corporació Sanitaria Parc Taulí. Localidad: Sabadell*

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

## Introducción:

En situaciones urgentes, es necesario canalizar una vía periférica (VP) del paciente para infundir líquidos y obtener muestras para su análisis en el laboratorio. Cuando la colocación de la VP es imposible, se recomienda una vía intraósea (IO), cuyo empleo está recomendado por numerosas asociaciones, tanto médicas como de enfermería (1-3).

Exposición del caso: Hombre de 46 años, con hábitos tóxicos encontrado inconsciente en parada cardiorrespiratoria. A su llegada a la UCI se extraen tres tubos de sangre para realizar análisis hematológicos, hemostasiológicos y bioquímicos cuyo aspecto macroscópico es grumoso. Tras centrifugar los tubos de hemostasia y bioquímica, se observa una capa opalescente, atribuible a hiperlipemia. Los resultados de las magnitudes bioquímicas y hemostasiológicas se informan, así como el aspecto de las muestras.

Tras procesar el hemograma se obtiene una concentración de leucocitos de  $179,820 \times 10^3$ . En el recuento al microscopio se observa que el número de leucocitos se encuentra dentro del intervalo de referencia. Se averigua que la discrepancia es debida a que las muestras han sido obtenidas de una IO.

## Objetivo:

Comparar los resultados de algunas propiedades biológicas empleando como espécimen sangre de una IO con los obtenidos de una VP.

## Material y Métodos:

Las magnitudes hematológicas se miden en el autoanalizador Sysmex XE-2100D (Roche) y las bioquímicas y las hemostasiológicas en los autoanalizadores Cobas 6000 y STA Compact (Roche) respectivamente, previa centrifugación a 4382.56 G-force (10 minutos). La revisión de la extensión se realiza empleando un microscopio óptico Olympus BX41.

Para establecer si existen diferencias entre los resultados de la IO y la VP se emplea un criterio metrológico, basado en la imprecisión de los procedimientos de medida y la variabilidad biológica (4). Se compara la diferencia relativa (DR) entre los resultados empleando la IO y la VP con el obtenido tras aplicar el criterio metrológico (1,65CV).

## Resultados:

Las DR obtenidas entre los resultados de la IO y la VP fueron superiores al criterio metrológico en todas las propiedades estudiadas. Además, se obtuvieron diferencias clínicamente significativas, siendo las más importantes las encontradas en la concentración de troponina T ( $<3 \text{ ng/L}$  en IO vs  $144 \text{ ng/dL}$  en VP), la de creatinina cinasa ( $466 \text{ U/L}$  en IO vs  $5448 \text{ U/L}$  en VP), lo que supuso una DR de 1000% y el tiempo de protrombina ( $>10 \text{ ratio}$  en IO vs  $1,16 \text{ ratio}$  en VP).

## Conclusiones:

El espécimen obtenido de una vía intraósea no debe ser utilizado como sustituto de la venosa.

## Bibliografía:

1. Jerry P. Nolan, Jasmeet Soar, David A. Zideman, Dominique Biarent, Leo L. Bossaert, Charles Deakin, Rudolph W. Koster, Jonathan Wyllie, Bernd Böttiger.

Guías para la Resucitación 2010 del Consejo Europeo de Resucitación (ERC). Traducción oficial autorizada al español del Consejo Español de Resucitación Cardiopulmonar (CERCP).

2. Dabrowska A, Telec W. New guidelines of Basic and Advanced Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care (ECC) American Heart Association (AHA). Wiad Lek. 2011;64(2):127-31.
3. Gloria M. Bulechek, Howard K. Butcher, Joanne McCloskey Dotcherman. Clasificación de Intervenciones de Enfermería (NIC), código 2303 "Administración de medicación: intraósea".
4. Fraser CG. Other uses of data on biological variation. En: Fraser CG. Biological variation: from principles to practice. AACC press, USA 2001. Traducción. Comisión de Calidad Analítica, SEQC, Barcelona, 2003.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 224**

## **TRAZABILIDAD EN LA PREPARACIÓN DE CITOSTÁTICOS**

*Autor/a/s: Gemma Tomas Alonso, Jéssica González Montes, Núria Borrego Vinuesa, María Carmen Quesada Almarcha.*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARI DE VALL D'HEBRON. Localidad: BARCELONA*

*Correo electrónico del primer firmante: gemma\_tomas82@hotmail.com*

### **Introducción:**

En el Servicio de Farmacia del Hospital Universitario Vall d'Hebrón (HUVH) se ha centralizado y automatizado la elaboración de citostáticos mediante un sistema de control de calidad de la empresa ISISH®, basado en la trazabilidad del producto medicamentoso.

### **Objetivos:**

Garantizar una precisión  $\pm 5\%$  de error en todas las preparaciones.

Identificar a cada paciente con el lote de todos los productos utilizados, así como el técnico que elaboró la preparación.

### **Material y Métodos:**

Los técnicos introducen en el software las cantidades de los diferentes productos citostáticos, así como los sueros fisiológicos y glucosados, que llegan desde el almacén central de la farmacia hasta el servicio. El registro también contempla los lotes y la caducidad de los mismos. El farmacéutico es el responsable de introducir la identificación de los diferentes pacientes y de la medicación prescrita.

Una vez validados los datos anteriores, el sistema de control de calidad permite realizar la preparación. El técnico selecciona al paciente mediante un sistema de reconocimiento de voz y el programa informático va secuenciando los pasos a seguir para realizar la elaboración del producto medicamentoso, según el Protocolo Normalizado de Trabajo (PNT informatizado). Durante la preparación se establece una comunicación verbal entre el software y el técnico, que se basa principalmente en la confirmación de la ejecución del protocolo.

El programa te muestra qué producto necesitas, el lote que debes utilizar y la cantidad necesaria. Se realizan dos pesadas, una de la bolsa del diluyente y una segunda pesada con el citostático introducido. La última pesada tiene que estar comprendida entre unos valores determinados que garantizan la precisión del preparado. Se ha configurado el sistema para que aparezcan como correctas las preparaciones con una exactitud del  $\pm 5\%$  de la preparación final. Antes de este sistema no se realizaban pesadas de control.

Todos los datos registrados en el sistema se graban para analizarlos en caso de ser necesario. El seguimiento del producto desde la llegada al servicio de farmacia hasta su administración por parte de enfermería es lo que se considera trazabilidad.

Cada seis meses se extraen unos listados donde aparecen los lotes de caducidad próxima. Esto permite gastarlos de forma prioritaria o desecharlos si han caducado. En ningún caso, el sistema informático permite realizar una preparación con un lote caducado.

Cada preparación es etiquetada con los datos del paciente y la dosis de carga, así como la velocidad de administración.

### **Resultados:**

Todas las preparaciones enviadas a las distintas unidades del hospital han cumplido una precisión del  $\pm 5\%$  de dosificación.

La detección precoz de lotes con caducidad próxima, han permitido su utilización evitando desechar el producto caducado, con el incremento económico que ello conlleva.

Si el paciente sufre algún efecto adverso anómalo y se sospecha del preparado, el sistema de trazabilidad permite realizar un retroceso de dicha elaboración para determinar si la causa ha sido la preparación.

### **Conclusiones:**

El tiempo de preparación es mayor con el sistema ISISH® que de forma manual, pero a su vez, este sistema de control de calidad asegura un margen de error de  $\pm 5\%$  del producto final.

El sistema de trazabilidad permite detectar los lotes utilizados en cada paciente.

El sistema de comunicación entre el software y el técnico basado en el reconocimiento de voz, disminuye considerablemente la manipulación fuera de la cabina de flujo vertical.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 225**

## **PREPARACIONES DE TIMOGLOBULINAS EN EL ÁREA PEDIÁTRICA**

*Autor/a/s: Jéssica González Montes, Núria Borrego Vinuesa, María Carmen Quesada Almarcha, Gemma Tomas Alonso*

*Centro de trabajo: Farmacia Hospital Universitario Vall d'Hebrón. Localidad: Barcelona*

*Correo electrónico del primer firmante: jsy-bcn85@hotmail.com*

### **Introducción:**

En España existen dos especialidades de timoglobulina comercializadas: Timoglobulina Genzyme® 25 mg (TG) y AteGe Fresenius® 100 mg (ATG). Ambas son de origen de conejo y tienen diferentes indicaciones autorizadas, aunque todas relacionadas con la profilaxis y tratamiento del rechazo en diferentes tipos de trasplantes de órganos sólidos o de progenitores hematopoyéticos.

### **Objetivo:**

Analizar todas las preparaciones de timoglobulinas elaboradas en el área Materno-Infantil del servicio de farmacia del Hospital Universitario Vall d'Hebrón (HUVH) durante el año 2012.

### **Material y método**

Los Técnicos Superiores de Diagnóstico de Laboratorio Clínico (TSDLC) del servicio de farmacia del área Materno-Infantil del HUVH, realizan las preparaciones de timoglobulina de forma manual en cabina de flujo laminar horizontal siguiendo las normas de correcta elaboración y esterilidad regidas en las normas ISO. Las preparaciones están acondicionadas para su administración en planta.

La información de la prescripción médica validada por el farmacéutico es transmitida por el TSDLC a una aplicación informática, que calcula según el procedimiento normalizado de trabajo (PNT) cómo hay que hacer la preparación individualmente y por paciente.

De esta aplicación informática se ha extraído toda la información de las preparaciones de timoglobulinas del año 2012: identificación del paciente, especialidad de timoglobulina, dosis, número de días de tratamiento y servicio prescriptor. La indicación se ha consultado en la historia clínica informatizada de cada paciente.

### **Resultados:**

Un total de 33 pacientes pediátricos han recibido timoglobulina: 28 TG, que corresponde al 85% de los pacientes; 24 en acondicionamiento de trasplante de médula ósea (TMO) y 4 como tratamiento del rechazo en trasplante de corazón. Por otro lado, 5 pacientes han recibido ATG, que corresponde al 15% de los pacientes, todos como inmunosupresión en el trasplante renal.

El número total de preparaciones ha sido de 130, de las cuales 109 corresponden a TG (82 preparaciones al servicio Onco-Hematología y 27 a UCI pediátrica) y 21 corresponden a ATG (14 a UCI pediátrica y 7 a Nefrología).

La duración media del tratamiento con TG ha sido 3,9 días (máximo 11 y mínimo 2) y de ATG de 4,2 días (máximo 5 y mínimo 2).

Las dosis medias diarias han sido de 54,27 mg para TG y 60,52 mg para ATG.

### **Conclusiones:**

La especialidad de timoglobulina que se utiliza con más frecuencia es la TG, para el acondicionamiento en TMO.



La ATG se utiliza exclusivamente en el protocolo de inmunosupresión del trasplante renal.

Las dosis medias diarias de TG y ATG son muy similares, aunque las especialidades no son intercambiables. La TG se dosifica en función del peso y no varía; en cambio, la dosis de ATG varía según el recuento linfocitario obtenido en la analítica.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 226**

### **AUTOMATIZACIÓN DEL INFLIXIMAB**

*Autor/a/s: NURIA BORREGO VINUESA, JÉSSICA GÓNZALEZ MONTES, MARIA CARMEN QUESADA ALMARCHA, GEMMA TOMAS ALONSO.*

*Centro de trabajo: Hospital Universitari Vall d'Hebron.. Localidad: BARCELONA*

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

#### **Introducción:**

En el Servicio de Farmacia del Hospital Universitario Vall d'Hebron se ha centralizado y automatizado mediante un robot, la elaboración de las preparaciones de Infliximab, utilizado en enfermedades autoinmunes como la Artritis Reumatoide y la Enfermedad de Crohn. La zona de trabajo interna del robot mantiene un ambiente controlado mediante filtros HEPAH14 que garantizan una calidad de aire ISO5.

#### **Objetivos:**

Garantizar una precisión  $\pm 5\%$  de la dosificación de las preparaciones.

Garantizar la esterilidad de la preparación.

Prevenir errores de medicación.

Reducir costes.

#### **Material y métodos:**

Mediante un software conectado al robot se consultan los detalles de cada preparación y la precisión de la dosificación. Se ha configurado el sistema para aparezcan cómo correctas las preparaciones con una exactitud de dosificación del  $\pm 5\%$ . Semanalmente se realizan controles microbiológicos tanto de la zona de trabajo (superficies internas del robot), como de la preparación final. La toma de muestra de aire se realiza por sedimentación en placas de agar sangre, y en cuánto a la preparación se extrae una muestra, y se envían al Servicio de microbiología para ser cultivadas.

Durante la preparación, el robot, mediante 2 cámaras digitales, identifica el vial del medicamento a utilizar y cada preparación es etiquetada con los datos del paciente y la dosis previa descarga.

Se ha hecho un cálculo del gasto que hubiera implicado realizar las preparaciones en Hospital de Día y se ha comparado al gasto que ha supuesto realizar lo en el Servicio de Farmacia.

#### **Resultados:**

Todas las preparaciones enviadas a Hospital de Día han cumplido una precisión del  $\pm 5\%$  de dosificación, de acuerdo con la información del software.

Se han obtenido todos los resultados negativos de microbiología, garantizando la esterilidad de las preparaciones.

La identificación por imagen de los viales a aumentado la seguridad y reduce errores de medicación.

La preparación centralizada en el Servicio de Farmacia de infliximab ha supuesto una media de ahorro de 18.900 al mes respecto su preparación en planta.

#### **Conclusiones:**

La preparación automatizada de infliximab asegura una dosificación correcta de las preparaciones. También disminuye las tareas manuales por parte del técnico, limitando la intervención humana a la carga y descarga de los componentes, aparte de la introducción: de las dosis en el software por parte del farmacéutico.

El tiempo que emplea el robot es superior al tiempo utilizado en hacer las preparaciones manualmente, pero a su vez, la automatización permite realizar varias técnicas simultáneamente.

La preparación en ambiente estéril aumenta la seguridad del preparado y permite conservarlo varios días antes de su administración.

La preparación centralizada en Farmacia de infliximab supone un ahorro importante debido al elevado precio de éste medicamento.

### **EVALUACIÓN DE LA FASE PREANALÍTICA EN LA UCRE DEL HU VIRGEN DEL ROCÍO**

*Autor/a/s: ROMERO GARCÍA, MARIA LUISA; VIRLÁN BOHORQUEZ, ROCÍO; LA-GARDA ORTIZ, LOURDES*

*Centro de trabajo: HOSP. UNIVERSITARIO VIRGEN DEL ROCÍO. Localidad: SEVILLA*

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

#### **Introducción:**

El SAS recoge entre sus normativas el Protocolo de Acreditación de Laboratorios Clínicos, manual editado por la Agencia de Calidad Sanitaria de Andalucía para la acreditación de los Laboratorios y el Proceso Soporte de los Laboratorios Clínicos.

La recepción unificada de muestras del HU Virgen del Rocío está funcionando desde 1999. Recibimos muestras de los hospitales que integran nuestro centro, centros de diálisis, CHAREs, centros penitenciarios, plataforma Coral, 42 centros de atención primaria y 2 centros de especialidades de nuestra área de influencia, con un promedio de 3000/3500 pacientes/día y un total de 9800/10000 muestras/día. También gestionamos la entrada de las peticiones que se remiten para su estudio a laboratorios externos y del envío de los estudios genéticos que oferta nuestro hospital. En febrero del 2004 se reorganiza y comenzamos a trabajar manualmente con un programa informático de registro de muestras basado en PSM de Roche.

#### **Objetivo:**

Evaluación de la fase preanalítica en nuestra recepción según parámetros establecidos en el Programa de Acreditación de Laboratorios Clínicos y en el Proceso Soporte de los Laboratorios Clínicos.

#### **Material y métodos:**

Estudio del Protocolo de Acreditación de Laboratorios Clínicos y el Proceso Soporte de los Laboratorios Clínicos.

Comparación de los datos recogidos hasta 2005 con los evaluados en 2010 y 2011.

Evaluación del PSM de recepción de muestras y las mejoras propuestas para el registro de muestras.

Valoración de los nuevos proyectos asumidos por la recepción de muestras (Coral, envío de estudios genéticos, envíos a laboratorios externos, incorporación del Cribado Prenatal 1º Trimestre en el área)

Estudio del protocolo de trabajo en la unidad (entrada de peticiones y muestras, transporte, registro de muestras) y estudio de los diferentes tipos de solicitudes analíticas y de los distintos programas informáticos para su procesamiento.

#### **Resultados:**

Hasta 2005 contabilizamos un total de 6818 muestra/día y un promedio de 2200/2400 pacientes/día. Tras el estudio de 2011 vemos que el número total de pacientes y peticiones ha aumentado, aunque el procesamiento de las muestras sigue siendo manual a través de PSM. Se han realizado propuestas de mejora en PSM para dar respuesta a las indicaciones de los diferentes destinatarios de las muestras y de las incidencias detectadas en el registro de las mismas y en algunos casos se han llevado a cabo.

La incorporación de nuevos programas como Coral y el Cribado prenatal ha necesitado de la creación de nuevos protocolos y rutas de trabajo, en gran parte con más complejidad que volumen de muestras.

El envío de muestras a laboratorios externos y de estudios genéticos ha necesitado de un registro independiente a los que ya realizábamos para obtener trazabilidad de las muestras.

En cuanto al rechazo de solicitudes por cumplimentación incorrecta, supone un problema a la hora de su devolución, ya que no siempre es posible detectar el punto de emisión de dicha solicitud o no tenemos forma de realizar esta devolución.

Existen dentro de nuestro laboratorio varios puntos de recepción y registro de muestras, lo cual a veces origina duplicidad de muestras con fechas diferentes en nuestro SIL.



## Conclusiones:

En la Recepción de muestras trabajamos diariamente con un gran volumen de muestras y peticiones de manera manual, tenemos gran variedad de solicitudes analíticas, varios programas informáticos, varios puntos de recepción y registro de solicitudes y muestras. Hemos detectado varias áreas de mejoras, necesarias para el inicio de la acreditación de nuestro laboratorio, entre ellas se encuentran:

Cumplimentación de las solicitudes analíticas correctamente. Incidir en las mejoras en la comunicación entre Aurora, Sidca y Omega. Se observan errores en la transmisión de datos, nº de historia duplicados, el mismo nº Nuhsa asociado a dos nº de historia en Sidca. Rechazo de solicitudes mal cumplimentadas.

Actualización y difusión de un manual de obtención de muestras y condiciones de envío según nuestra cartera de servicio. Implementación y mejoras en la petición electrónica de Sidca como alternativa a la variedad de solicitudes analíticas existentes.

Información a los centros de AP y a las consultas de extracciones de estos centros de todos los cambios e incidencias detectados y visitas a los centros.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 239**

### PROYECTO CORAL

*Autor/a/s: ROMERO GARCÍA, MARIA LUISA; VIRLÁN BOHORQUEZ, ROCÍO*

*Centro de trabajo: HOSP. UNIVERSITARIO VIRGEN DEL ROCÍO. Localidad: SEVILLA*

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

## Introducción:

CORAL (Coordinación y Optimización de la Red Andaluza de los Laboratorios) es un proyecto del SAS para externalizar las pruebas diagnósticas en los diferentes hospitales de la red.

Se pone en marcha como proyecto piloto en 2010 entre los hospitales de Huelva y el H.U. Virgen del Rocío de Sevilla. Posteriormente se incorporan el Hospital de Valme y el de Osuna, de Sevilla. La filosofía de este proyecto es la de aprovechar los recursos de la red de hospitales para externalizar las pruebas que hasta ahora se venían enviando a laboratorios externos.

En 2012 cambia a PILA (Plataforma de Integración entre Laboratorios Andaluces), aunque los cambios en la forma de trabajar son mínimos. En breve nos incorporaremos nosotros como origen de peticiones.

Las peticiones que incluyan pruebas que no se realizan en los hospitales que trabajan con Coral se integran en la plataforma generándose una solicitud que junto con las muestras se envían al hospital de referencia donde se codifican y se confirman en Coral. De aquí pasan al SIL del laboratorio para su procesamiento y posteriormente se transmiten los resultados.

## Objetivo:

Valorar la eficacia de la sistemática establecida para el tratamiento y procesamiento de estas muestras.

Detectar incidencias y áreas de mejora en esta sistemática de trabajo ante futuras incorporaciones de nuevos hospitales

## Material y Métodos:

Hemos recogido los datos obtenidos del procesamiento de 24.862 peticiones enviadas desde Abril de 2010 hasta Enero de 2012. Se han desglosado estas peticiones por procedencia y por tipo de muestra para valorar el transporte, la preparación previa de las muestras y por tipo de prueba para detectar las necesidades de cada hospital.

Se ha evaluado el proceso de trabajo en la plataforma Coral/Pila para detectar las incidencias y sus posibles mejoras, así como para valorar las cargas de trabajo añadidas con este proyecto en la recepción de muestras de H.U. Virgen del Rocío de Sevilla.

## Resultados:

En un primer paso se ha actualizado el Catálogo de pruebas que se oferta en la plataforma. Hemos detectado problemas en la definición de pruebas o en las condiciones de envío de las muestras. También se han detectado errores de comunicación entre la plataforma y los distintos SIL de los hospitales.

Tras estudiar las peticiones por origen de procedencia vemos que de Huelva se han recibido 5.116 peticiones, de las cuales 634 corresponden al Hospital de Riotinto y 4.482 al hospital Juan Ramón Jiménez. En esta provincia el hospital Juan Ramón Jiménez es el de referencia, por lo que las muestras que se remiten a Coral corresponden a pruebas que no se realizan en dicho hospital. Las muestras se reciben por empresas de mensajería y recibimos alícuotas de sueros, edta, orina y heces. En algunas ocasiones se reciben muestras congeladas.

Del Hospital de Valme (Sevilla) hemos recibido 17.346 peticiones y del hospital de Osuna 2.400 peticiones. En el caso de estos hospitales nosotros somos el hospital de referencia, si bien antes de trabajar con la plataforma CORAL ya recibíamos peticiones de algunas pruebas que ellos no realizaban por conexión entre los SIL de los hospitales. Las muestras recibidas también son alícuotas de suero, orinas, heces y edtas.

Por tipo de prueba observamos que las más solicitadas son los estudios de alergia, autoinmunidad, estudios de catecolaminas urinarias y estudios HLA y de inmunosupresores.

## Conclusiones:

Tras estudiar todo el proceso hemos detectado problemas informáticos de conexión entre Coral y los SIL de los hospitales.

Creemos que el proyecto ha aumentado la carga de trabajo de nuestra recepción de muestras al necesitar estas peticiones un procesamiento muy diferente al que realizamos habitualmente, ya que tenemos que identificar petición y muestra con un código de barras interno y luego procesarlas en Coral.

El transporte de muestras por empresas de mensajería dificulta la posible devolución de muestras erróneas y el envío de nuevas muestras por la distancia entre los centros. Asimismo algunas pruebas parecen difíciles de ofertar en Coral por los condicionantes de la muestra previos a su estudio, en concreto en el estudio de poblaciones celulares por la viabilidad de las mismas.

Una vez incorporadas estas peticiones a nuestro SIL se procesan igual que las que recibimos habitualmente y los resultados obtenidos se integran en Coral.



# ÍNDICE DE AUTORES

Autor_Primer	nº pagina
ABUIN OTERO, ANA BELEN	73
ALONSO DIEZ, JOSE ANTONIO	61
ALONSO LORITE, JESSICA	18
ARANDA ARANDA, MARIA DOLORES	87
ARAS IBARZABAL, MONIKA	70, 105
BALBIN ARANEGA, MARIA CATALINA	84
BARBA MIRAMONTES, MARIA JOSE	96, 106,107
BARCELO LIEBANA, ESTER	41
BECERRA, DIEGO	114
BERRAL BAENA, FRANCISCA	62, 63
BOADA LLAMAS, CRISTINA	36
BORREGO VINUESA, NURIA	120
BRAVO CABELLO, FRANCISCA	20, 60
BUSQUETS CARMONA, NURIA	118
CABALLERO MOYANO, FRANCISCO JAVIER	93, 94
CABEZAS FERNANDEZ, SANDRA	49
CANDELA ZAMORA, ISABEL	110
CAPEL, MARIA JESUS	76
CARDONA FARRIOL, JESSICA	23
CARRERAS FERNANDEZ, M. CARMEN	92
CARRERO BAZ, PILAR	46
CASTILLEJO, MARIA ISABEL	49, 53
CASTRO VAL, PAZ	8
CERNUDA, DAVID	42
COITO, ANA	38
COLMENERO MARTOS, ANA MARIA	21
COSTA, LOURDES	48
COUSELO NOYA, MARIA JESUS	55
CREGO MARTIN, AMADOR	45
DE LA FUENTE HUERGA, MARIA DEL CARMEN	22
DE LA HIZ MARROQUI, DOLORES	35
DE LUCAS AGUADO, IRENE	113
DELGADO SALAZAR, INMACULADA	39
DIAZ CAMPOS, JESUS MARIA	18
DIAZ ZAYAS, Mª DOLORES	26

Autor_Primer	nº pagina
DOMINGUEZ DOMINGUEZ, DIANA	41
ESPIGARES GALLARDO, MARIA ANGELES	88
ESTEBANEZ GALLO, ANGEL	11
FERNANDEZ HEVIA, BARBARA	10
FERNANDEZ MARTINEZ, MARIA MERCEDES	37
FERNANDEZ TERAN, MAITE	66
GALIANO, LUCIA	65
GANDIA GONZALEZ, M. ARANZAZU	86
GARCIA CAMAZANO, ROSA MARIA	99, 100
GARCIA HUERTA, EVA MARIA	45
GARCIA NIETO, Mª SOLEDAD	56
GARCIA PALOMO, ANTONIA MARIA	64
GARCIA PERELA, INMACULADA	15
GARCIA RODRIGUEZ, DOLORES	52
GARCIA SERRANO, Mª CARMEN	31
GARCIA VAZQUEZ, CARMEN	111
GARCIA VELA, JOSE HERMINIO	55, 83
GEROTINA MORA, EDGAR	52
GERVAS RIOS, RUTH	7
GIL GALOCHINO, Mª CARMEN	42
GOMEZ BARRAL, MELANIA	71
GONZALEZ ESPARTERO, MARIA DEL PILAR	42
GONZALEZ GONZALEZ, ANA BELEN	107
GONZALEZ MONTES, JESSICA	119
GONZALEZ PIRIS, GLORIA ISABEL	5
GONZALEZ ROSA, MANUEL	92
GRACIA MARTINEZ, ANA	32, 79
GUERRA MONTAÑO, AMPARO	82
GUILLEN ESTEBAN, M. CARMEN	60
GUILLEN ESTEBAN, PILAR	20
GUTIERREZ DELGADO, MARIA DOLORES	95
HERNANDEZ ASENSIO, PILAR	67
HERNANDEZ BARRERA, Mª JOSE	12
HERNANDEZ SANTOS, LORENA	117
HERRANZ GONZALEZ-BOTAS, CRISTINA	56

<b>Autor_Primer</b>	<b>nº pagina</b>	<b>Autor_Primer</b>	<b>nº pagina</b>
HITA SANCHEZ, MARIA TRINIDAD	16	MONTERO VELASCO, OLGA	96
ISNARD CARO, LEONARDO JESUS	89	MORAL HERNANDO, Mª DEL ROSARIO	80
JIMENEZ MARTI, LAURA	48	MORAL MORAL, JUANA	57
JIMENEZ MARTIN, REMEDIOS	91	MORALES GALAN, PILAR	89
JIMENEZ SANCHEZ, MARIA DOLORES	44	MORALES SOLANA, AMALIA	105
LINDO MARTIN, ESMERALDA	4	MORENO CASARES, ANTONIA MARIA	40, 77
LOPEZ GALINDO, NURIA	59	MORENO MARTINEZ, REMEDIOS	98
LOPEZ GARCIA, CONSUELO	14	MUÑO ANDRADE, MARIA JOSE	103
LOPEZ LEMOS, Mª JOSE	57	MUÑOZ MARIN, Mª FRANCISCA	58
LOPEZ LOPEZ, MARIA ISABEL	39	NAVAJAS ROJANO, FRANCISCA	19
LOPEZ PLATERO, DOLORES LUCIA	100	NAVARRO PLAZA, ANA FLOR	104
LOPEZ RUIZ, FRANCISCO	66	NAVAS JIMENEZ, LUIS CARLOS	9
LOPEZ SOUTO, VERONICA	45	NIETO AGUADO, Mª SOLEDAD	102
LOPEZ VILA, MARI FE	78	NIUBO PORTIS, ANTONIA	115
LOPEZ-GARCIA, ANTONIO	116	NUÑEZ, LAURA	116
LOSA JOVER, BEATRIZ	117	ORDAS PIÑEIRO, ALEJANDRA	7
MACHADO GONZALEZ, MARIA ANGELES	60	OROL MASEDA, SUSANA	110
MARCOS GUTIERREZ, Mª JESUS	81	ORTEGA MONTORO, Mª JOSE	32
MARIA DOMINGUEZ, BERNARDINA	101, 108	ORTIZ MARTIN, Mª INMACULADA	106
MARTIN ANDRES, M. FELICIDAD	17	ORVIZ IGLESIAS, EVA FLORINDA	27
MARTIN VEGA, JOSE VALERIO	35	PAGOLA DEL SANTO, M. JESUS	81
MARTINEZ BETANZOS, ALEJANDRA	16	PANADERO TAPIA, NURIA	62
MARTINEZ CHINCOLLA, CAROLINA	28	PARDO CORRAL, MARIA DOLORES	86
MARTINEZ FERNANDEZ, ANA	111	PAZ PAZ, MARIA ANGELES	22, 24, 92
MARTINEZ MATIENZO, MARIA INMACULADA	43, 44	PEREZ BOO, ANTONIO	72
MARTINEZ MORALES, MAR	50	PEREZ CANO, MARIA	10
MARTINEZ PALACIOS, SANDRA	47	PEREZ IBEAS, DEVORA AURORA	5
MARTINS, LUIS	76	PEREZ PINAR, CARMEN	104
MEDINA TORRES, ELOISA	112	PEREZ VILA, RAQUEL	27
MEJIAS GARCIA, ROSARIO	65	PEREZ-FONTAN FERNANDEZ, J.F.	6
MELLENDEZ CADENAS, RICARDO JOSE	50, 51	PICO FERNANDEZ, FRANCISCO JAVIER	73, 74
MELGUIZO MORALES, VIRTUDES	30, 71	PINA ECHEVARRIA, MARIA JOSE	19, 43
MENDOZA RUIZ, CARMEN	69	PRIETO SAINZ, MARIA BELEN	14
MERIDA DEL CAÑO, MARIA DOLORES	103	PRO JIMENEZ, MARIA JESUS	69
MIRANDA ALFARO, GLORIA	68	PUMAREJO GOMEZ, ENRIQUETA	12
MONGE CAMACHO, MARIA DEL PATROCINIO	31	QUESADA GARCIA, Mª JOSEFA	68
MONTERO RODRIGUEZ, LUIS ALBERTO	34, 36	QUIROSA MORENO, MARIA BELEN	89



<b>Autor_Primer</b>	<b>nº pagina</b>	<b>Autor_Primer</b>	<b>nº pagina</b>
RAFOLS FERRER, ROSER	20	SARAIVA, SONIA	37
RAMOS FELEZ, ESTER	23	SASTRE GARROTE, ANA MARIA	17
RAMOS SIERRA, LETICIA	108	SERRANO FERNANDEZ, MARIA INES	33
RAMOS, MARI CARMEN	6	SIERRA ATIENZA, CELESTINA	98, 109
REDONDO GONZALEZ, M <sup>a</sup> DEL PILAR	70	SILVA, ANDREIA	53
REINA COMPANY, DIANA	109	SISO PEREIRO, MARIA ASCENSION	25
RICO SERRANO, MARIA CARMEN	33	SOMAZA SERANTES, NATIVIDAD C.	85
RIOS QUESADA, CATALINA	21	TALAVERA FRAILE, AURORA	112
RIOS RAMOS, MARIA JOSEFA	34	TEJEDOR TEJEDOR, LAURA	25
RIVAS ALMAGRO, MARIA ELENA	64	TESTILLANO, MARIA	115
RIVERA GENTIL, ROCIO	26, 85, 88	TOMAS ALONSO, GEMMA	119
ROBLES SOLANO, MAITANE	39	TORRES DIAZ, JAVIER LAZARO	99
RODENAS FERNANDEZ, ROBERTO	4	TORRES ULINES, SOLEDAD	14
RODIL FERREIRO, REBECCA	77	TULLY SANCHEZ, MARIA DEL MAR	63
RODRIGUEZ AVILA, GABRIELA	29	URCIA ROZAS, CARLOTA	107
RODRIGUEZ CAMACHO, MARIA LUISA	15, 114	VALDERRAMA MORAL, FRANCISCO ANTONIO	90, 103
RODRIGUEZ FUENTES, MARIA TERESA	55	VALERA ARCAS, MARIA DOLORES	87
RODRIGUEZ PEREZ, JOSEFINA	24, 95	VARELA SOTO, BEGOÑA GLORIA	31, 47
RODRIGUEZ, ADELA	113	VARGA CUBILLO, BEGOÑA	79
ROLDAN MORENO, JOCABED	69	VAZQUEZ BARBA, ISABEL DOLORES	87
ROMERO GARCIA, MARIA LUISA	120, 121	VAZQUEZ RODRIGUEZ, MANUEL JESUS	78
ROMERO GUTIERREZ, CARMEN	67	VAZQUEZ, JOSE ANTONIO	11
RUBIN, TERESA	75	VEAS-PEREZ DE TUDELA, B.	8
RUBIO CAMPOS, TEODORA LUCIA	29	VILLENA PERMANYER, CARMEN	52
RUBIO GARCIA, SORAYA	46	VIZCAINO HERNANDEZ, BELEN	18
RUIZ FERRI, AMPARO	74	ZORIO REYES, INMACULADA	97
RUIZ RODRIGUEZ, RAQUEL	80		
SALVADOR LORENZO, MARIA JOSE	101, 102		
SAMPEDRO DE LA TORRE, INMACULADA CONCEPCION	94, 95		
SANCHEZ ALVAREZ, ANTONIO	91		
SANCHEZ BRIGIDANO, M <sup>a</sup> DE LOS ANGELES	85		
SANCHEZ HERNANDEZ, FRANCISCO JAVIER	84		
SANCHEZ MATEOS, CARMEN BEATRIZ	26		
SANCHEZ MUÑOZ, SUSANA	28		
SANCHEZ QUINTANA, ENGRACIA	97		
SANTOS PEREZ, ANA ROSA	12		
SANZ CABRERIZO, M <sup>a</sup> ISABEL	72		



