



**27<sup>o</sup> Congreso Nacional 2014**  
**Inmunodiagnóstico**

**Córdoba** **23 y 24 de mayo**  
**Palacio de Congresos de Córdoba**

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

Reconocido de interés científico-sanitario por la Consejería de Salud y Bienestar Social de la Junta de Andalucía.

**CURSO PREVIO (TSLDC - TSAP y C)**

**22, 23 y 24 de mayo**

**«TÉCNICAS DE INMUNODIAGNÓSTICO»**

**ESPECIAL**  
**TRABAJOS CIENTÍFICOS**

— **Comité Organizador** —

Presidente Juan Carlos Rodríguez Pérez  
Vicepresidente José Herminio García Vela  
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  
Rosaura Reguera Andrés  
Javier Sánchez Hernández



# SUMARIO

- Anatomía Patológica . . . . .	05
- Bioquímica . . . . .	18
- Genética . . . . .	44
- Hematología . . . . .	53
- Inmunología . . . . .	71
- Microbiología . . . . .	90
- Miscelánea . . . . .	122
- Índice de autores . . . . .	131

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: 045

## DETERMINACIÓN DE ALK POR INMUNOHISTOQUÍMICA

*Autor/a/s: Elena Julia Alonso Morrondo, Alejandra Ordas Piñeiro, Belen Rivas Marcos, María de los Angeles Pacios Pacios, Angustias Pérez Sanchez, Sofía del Carmen Martínez, Marta Rodríguez Gonzalez*

*Centro de trabajo: HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO DE SALAMANCA*

*Localidad: Salamanca*

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

### RESUMEN:

El cáncer de pulmón es la primera causa de muerte por cáncer en el mundo. La mayoría de los pacientes son diagnosticados en estadios avanzados, cuando las soluciones terapéuticas son limitadas. En los últimos años se ha progresado mucho en el desarrollo de terapias moleculares encaminadas a estos pacientes. Uno de los últimos avances es el crizotinib, que reciben pacientes que presentan reordenamientos de ALK (Anaplastic Lymphoma Kinasa).

Presentamos el caso de un paciente varón de 74 años, no fumador, que acudió a su médico por tos persistente. Tras la sospecha en el TC de una masa espiculada de 5,5 cm. en el lóbulo superior izquierdo, fue sometido a cirugía para reseccarla. Recibimos una pieza de lobectomía que tras su estudio anatomopatológico mostró la presencia de un adenocarcinoma bien diferenciado (O.M.S. 2004), pT2B N0 M0, Estadio IIA (T.N.M. 2009).

### OBJETIVOS:

Realizar la técnica de inmunohistoquímica para ALK sobre el material tumoral de un paciente con adenocarcinoma de pulmón.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Para el estudio de ALK mediante inmunohistoquímica, se utiliza el Kit de amplificación OptiView, con la sonda VENTANA anti-ALK(D5F3) y se lleva a cabo en las plataformas de tinción Benchmark XT. El protocolo de la tinción requerirá cortes de tejido fijado en formol y embebidos en parafina. En uno de ellos se realizará la tinción de Hematoxilina-Eosina, otro corte para la inmunotinción del anticuerpo ALK (D5F3) y un tercer corte para el anticuerpo monoclonal rabbit negativo IG.

Estas plataformas realizarán sobre las muestras a tratar los siguientes pasos:

- (1) Desparafinado a 60 °C.
- (2) Acondicionador celular
- (3) Batería de CC1. tiempos marcados por la casa.
- (4) Tratamiento de inhibición de la peroxidada endógena.
- (5) Anticuerpo primario ALK(D5F3). 37°C.
- (6) OptiView HQ Linker.
- (7) OptiView HQ Universal Linker.
- (8) OptiView HRP Multimer.
- (9) OptiView Amplificación.
- (10) Contratinción con Hematoxilina.
- (11) Post- contratinción con Bluing Reagent.

### RESULTADOS:

Se evaluó la expresión de la proteína ALK como positiva cuando se encontró una tinción citoplasmática granular únicamente en las células tumorales. Dicho resultado fue corroborado mediante técnicas de FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) con una sonda "break-apart" (Vysis LSI ALK Dual Color, Break Apart Rearrangement Probe; Abbott Molecular).

### CONCLUSIONES:

Los pacientes con adenocarcinoma de pulmón en estadios avanzados que presentan translocaciones de ALK tienen una respuesta favorable al tratamiento con crizotinib. Hasta ahora sólo existía la posibilidad de realizar técnicas de FISH. Sin embargo, gracias a las mejoras realizadas en los anticuerpos utilizados en inmu-

nohistoquímica, éstos son más específicos para la detección de la proteína de ALK en el citoplasma de la célula tumoral. Al ser un método rápido y fácil de interpretar podemos utilizarla para determinar en qué pacientes podría haber una translocación de ALK, y por tanto, en los que es preciso una confirmación mediante FISH; eliminando las muestras negativas, en las que la translocación no estaría presente y por tanto, no sería necesario realizar técnicas de FISH.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 046

## ESTUDIO CUANTITATIVO DEL EFECTO DE VEMURAFENIB EN LAS CÉLULAS DE MELANOMA CON LA MUTACIÓN V600E DE BRAF

*Autor/a/s: Sonia López Overa, Roberto Ródenas Fernández, Noelia Macías González, María del Carmen Rodríguez Gonzáles, Juan José Garrido Gallego, Ángel Santos-Briz Terrón*

*Centro de trabajo: HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO DE SALAMANCA*

*Localidad: SALAMANCA*

*Correo electrónico del primer firmante: soy.sonia@hotmail.com*

### RESUMEN:

El desarrollo de nuevas terapias con anticuerpos monoclonales (Vemurafenib, Dabrafenib) contra la proteínquinasa BRAF con mutación V600E ha cambiado el diagnóstico anatomopatológico de los melanomas en estadio avanzado, para lo que es necesario su análisis molecular, generalmente realizado por métodos de PCR a tiempo real.

Presentamos el caso una mujer de 82 años operada de melanoma acral localizado en planta de pie izquierdo ulcerado de 5´85 milímetros de espesor de Breslow, estadio pT4n1 con metástasis ganglionares y múltiples metástasis cutáneas. El estudio molecular demostró la presencia de la mutación V600E del protooncogén BRAF. Tras tratamiento con Vemurafenib por vía oral la mayoría de las lesiones metastásicas desaparecieron observando únicamente una lesión residual en la planta del pie izquierdo que fue extirpada.

### OBJETIVOS:

Evaluar mediante análisis de imagen, el efecto que el tratamiento con Vemurafenib produce en las células con melanoma BRAF mutado, comparando las características citológicas de las células antes y después del tratamiento.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realizó estudio molecular de la mutación V600E de BRAF mediante PCR a tiempo real con el sistema COBAS® de Roche).

La extracción de ADN se realizó mediante equipo Qiacube de Qiagen

Se efectuaron técnicas de inmunohistoquímica para Ki-67 y Ciclina D1 (Menarini) con sistema de Novolink.

Se realizó medición del tamaño nuclear con el sistema Cell® de Olympus comparando el tamaño de las células tumorales en metástasis cutáneas antes y después de la terapia.

El análisis estadístico se efectuó con el software SPSS 14.0

### RESULTADOS:

Se observó una reducción significativa del diámetro nuclear de las células post tratamiento con Vemurafenib (p<0.001).

El estudio inmunohistoquímico demostró disminución de la expresión de Ciclina D1 y del índice proliferativo (Ki-67).

El tumor tratado presentó además zonas de regresión y menos actividad mitótica.

### CONCLUSIONES:

El presente caso demuestra el efecto de Vemurafenib sobre células tumorales de melanoma con la mutación V600E del protooncogén BRAF empleando un sistema de análisis de imagen cuantitativo. El tumor post tratamiento presenta áreas de regresión, disminución del tamaño nuclear, de la actividad proliferativa y del perfil inmunohistoquímico

### MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN DEL HELICOBACTER PYLORI

*Autor/a/s: BÁRBARA FERNÁNDEZ HEVIA, RAQUEL GONZÁLEZ MARTÍNEZ, CRUZ RODIL ÁLVAREZ, PAZ CASTRO VAL, BEATRIZ CASTAÑÓN FERNÁNDEZ*

*Centro de trabajo: COMPLEJO ASISTENCIAL UNIVERSITARIO DE LEON*

*Localidad: LEON*

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

#### INTRODUCCIÓN:

El *Helicobacter pylori* es una causa importante en las lesiones gastroduodenales, cáncer gástrico y linfoma; por lo que hay un gran interés en su detección y erradicación.

Hay datos recientes que sugieren que la mayoría de las tinciones no son necesarias para establecer el diagnóstico de infección por HP.

#### OBJETIVOS:

Determinar la realización de las técnicas de histoquímica e inmunohistoquímica (IHQ), una vez se ha obtenido el tejido, pero es conveniente realizar una discusión sobre los diversos medios de detección del HP y como pueden influir en utilización de las técnicas.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Pruebas no invasivas

- Anticuerpos Anti *Helicobacter* sensibilidad 90-97%
- Prueba del antígeno en heces, sensibilidad 95%
- Prueba del aliento, sensibilidad 95%

Pruebas invasivas

- Test rápido de la ureasa del HP
- Cultivo celular (menor sensibilidad que otras pruebas)
- Pruebas moleculares (PCR) (prueba cara y no es de rutina)
- Examen histológico (sensibilidad de casi el 100%)

#### RESULTADOS:

La IHQ está indicada en: gastritis linfocítica, carditis crónica activa, gastritis crónica activa (si el HP es negativo en H-E), gastritis crónica inactiva si están presentes úlceras gastroduodenales, linfoma de Malt o adenocarcinoma.

No está indicada la IHQ, mucosa gástrica normal, gastroscopia reactiva, en pólipos de glándulas fúndicas, esófago de Barrett y en biopsia duodenal

#### CONCLUSIONES:

En la mayoría de los casos de infección por HP, se puede diagnosticar o se sospecha en el estudio de HE (morfología)

Se recomienda el uso de IHQ como herramienta diagnóstica especial mas adecuada para la detección del HP

Las técnicas auxiliares no están indicadas cuando el HP es detectado en la H-E.

### (LOCALIZACIÓN DE CÉLULAS MADRE ADULTAS EN TEJIDO CARDÍACO TRAS SU ADMINISTRACIÓN INTRAPERICÁRDICA)

*Autor/a/s: (Usón Alejandra, Álvarez Verónica, Blázquez Durán Rebeca, Baez Claudia, Crisostomo Verónica, García Casado Javier, Sanchez-Margallo Francisco Miguel)*

*Centro de trabajo: Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón*

*Localidad: Cáceres*

*Correo electrónico del primer firmante: auson@cmijesususon.com*

#### INTRODUCCIÓN:

Las vías de administración de células madre adultas para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares deben asegurar la viabilidad, potencial proliferativo, capacidad de migración e implantación de las células transferidas. A día de hoy,

pocos trabajos han descrito la administración de células madre adultas por vía intrapericárdica. En este trabajo planteamos como objetivo general analizar los aspectos de seguridad y biodistribución de la administración intrapericárdica de células madre adultas en un modelo clínicamente relevante como el modelo porcino.

#### OBJETIVOS:

El primero de los objetivos de este trabajo estaba dirigido a determinar las condiciones óptimas de marcaje con partículas superparamagnéticas. El segundo de los objetivos consistió en la localización de las células a 7 días después de la administración.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Para el primero de los objetivos, sobre cultivos in vitro de células madre adultas, se empleó la tinción azul de Prusia, y su observación microscópica, seguida de una lisis celular que nos permitió la cuantificación espectrofotométrica del contenido de las partículas superparamagnéticas en el interior de la célula. Para el segundo objetivo, sobre cortes histológicos obtenidos de las diferentes localizaciones del corazón, se emplearon las tinciones Hematoxilina-Eosina (H/E), y Tricrómica de Masson. Brevemente, los cortes fueron procesados con el procesador MYR e incluidos en parafina comercial, siguiendo el protocolo habitual de procesado. Los cortes se realizaron con un micrótopo de rotación tipo MINOT, con un grosor de entre 8 y 12µ. Una vez cortadas se introducen en el baño de flotación y se trasladan a la placa caliente durante 30 minutos a 60°C en el porta-objetos. Tras la placa, se desparafinan las muestras en un baño de Xilol durante 20 minutos y se hidratan con alcoholes descendentes. Una vez hidratadas las muestras se tiñen con el protocolo dictado por la casa comercial.

#### RESULTADOS Y CONCLUSIONES:

En relación con el segundo objetivo, puesto que los resultados preliminares empleando técnicas de resonancia magnética indicaron una localización preferente de las células en la zona del ventrículo izquierdo y el ápex, sólo se realizaron estudios histológicos en estas localizaciones. Se realizaron 8 cortes de ápex, 3 teñidas con Tricrómica de Masson, 2 con H/E y 3 con azul de Prusia. 7 cortes de ventrículo izquierdo, 4 teñidas con Tricrómica de Masson, 3 con H/E, y 10 cortes de aurícula izquierda, 6 teñidas con Tricrómico de Masson y 4 con H/E. Se puede concluir que, el marcaje utilizado es eficaz para la cuantificación del marcaje con partículas superparamagnéticas en el células madre adultas. Además, esta tinción permite la localización y la observación del grado de penetración de las células madre adultas tras 7 días después de la administración. Por otro lado, esta tinción puede combinarse con otro tipo de tinciones (Tricrómico de Masson o H/E) para una correcta localización anatómica. Finalmente, es importante indicar que esta tinción permite la visualización de células mediante microscopía de luz visible, no siendo necesarios la realización de técnicas de inmunohistoquímica ni el uso de microscopios de fluorescencia.

### DETERMINACION DE HER2 POR CITOMETRIA DE FLUJO

*Autor/a/s: LÓPEZ CASTRO RODRIGO, FOCHE ORDOÑEZ ANA, SEGURA PÉREZ ANA, GUERRERO PEÑA INÉS, IBAÑEZ GUERRERO LUCÍA.*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES*

*Localidad: GRANADA*

*Correo electrónico del primer firmante: rodrigo.lopez.sspa@juntadeandalucia.es*

#### INTRODUCCIÓN:

EL ESTUDIO DE HER2 SE REALIZA EN TODOS LOS TUMORES DE MAMA, AUNQUE LA TÉCNICA DE INMUNOHISTOQUÍMICA NO ES COMPLEJA, EL DIAGNÓSTICO ES SUBJETIVO, DE AHÍ LA DISCORDANCIA EXISTENTE.

EL ESTUDIO DE HER2 CON CITOMETRÍA DE FLUJO (CF), AL PROPORCIONAR VALORES CUANTITATIVOS PODRÍA ELIMINAR ESOS PROBLEMAS, SÓLO HABRÍA QUE ESTABLECER LA CORRELACIÓN CON LOS VALORES DIAGNÓSTICOS ACTUALES.

#### OBJETIVOS:

INTENTAMOS ENCONTRAR UN SISTEMA QUE MINIMICE EN LA MEDIDA DE LO POSIBLE LA INTERPRETACION SUBJETIVA Y LOS PROBLEMAS DE DISCORDANCIA EN LOS DIAGNÓSTICOS DE HER2, CON UN MÉTODO QUE PROPORCIONE VALORES CUANTITATIVOS.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

ESTUDIAMOS 40 TUMORES MAMARIOS A PARTIR DE TEJIDO EN FRESCO. MEDIANTE PROCEDIMIENTOS QUÍMICOS CON COLAGENASA Y MECÁNICOS CON MEDIMACHINE (DAKO) CONSEGUIMOS LISAR EL TEJIDO HASTA LA OBTENCIÓN DE LAS CÉLULAS INDEPENDIENTES.

ANALIZAMOS CON CITOMETRÍA DE FLUJO CON (CYAN DAKO), UTILIZANDO LOS SIGUIENTES ANTICUERPOS PRIMARIOS (PARA REALIZAR ESTUDIOS DE DOBLE TINCIÓN) MARCADOS CON DIFERENTES FLUOROCROMOS PARA:

- CITOKERATINA7(DAKO)
- CB11(NOVOCASTRA)
- A485(DAKO)
- TAB 250 (ZYMED)

## RESULTADOS:

LOS RESULTADOS FUERON COMPARADOS CON LOS OBTENIDOS EN INMUNOHISTOQUÍMICA, DONDE LA EXPRESIÓN DE KERATINA 7 PRESENTA UNA ALTA CORRELACIÓN.

LOS RESULTADOS DEMUESTRAN TAMBIÉN BUENA CORRELACIÓN ENTRE LOS TRES ANTICUERPOS FRENTE A HER2, AUNQUE LA CORRELACIÓN CON LA EXPRESIÓN DE HER2 EN INMUNOHISTOQUÍMICA PRESENTABA DISCORDANCIAS EN LOS CASOS +1/+2..

## CONCLUSIONES:

ESPERÁBAMOS QUE LOS VALORES DE HER2 OBTENIDOS POR CITOMETRÍA DE FLUJO CORRESPONDIERAN CON LOS DE INMUNOHISTOQUÍMICA. AUNQUE LA TOMA DE LA MUESTRA ES PEQUEÑA, ESTE ESTUDIO APUNTA HACIA UN REPLANTEAMIENTO DEL SISTEMA DE CUANTIFICACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE HER2 QUE YA HA SIDO REALIZADO EN LA CORRESPONDIENTE CONFERENCIA DE CONSENSO DE 20013. IGUALMENTE LA CITOMETRÍA DE FLUJO PODRÍA SER DE UTILIDAD EN LOS CASOS CON DISCREPANCIAS INTEROBSERVADOR.

LA PUESTA PUNTO DE ESTA TÉCNICA, PROPORCIONARÍA RESULTADOS CON UN VALOR CUANTITATIVO, LO QUE ELIMINARÍA LA SUBJETIVIDAD, Y LOS PROBLEMAS DE DISCORDANCIA EN LOS DIAGNÓSTICOS, ESPECIALMENTE, EN LOS CASOS 1+ PUESTO QUE LOS CASOS 2+ DEBE SER ANALIZADOS MEDIANTE FISH PARA CONFIRMAR LA AMPLIFICACIÓN. FINALMENTE ESTE PROCEDIMIENTO DE CITOMETRÍA DE FLUJO DISMINUIRÍA EL TIEMPO DE RESPUESTA PARA APLICAR EL TRATAMIENTO.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 151**

### ENFERMEDAD DE ALEXANDER. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO Y MOLECULAR

*Autor/a/s: María Jose Muñoz Serrano, Graciela Perdomo Benitez, Eduardo Araujo Ruano y Juan José Cabrera Galvan*

*Centro de trabajo: Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno Infantil*

*Localidad: Las Palmas de Gran Canaria*

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

## INTRODUCCIÓN:

La enfermedad de Alexander es una rara lesión neurológica que presenta tres variantes clínicas: Infantil, Juvenil y del Adulto. La forma del Adulto se presenta con un Síndrome Cerebeloso con disartria, dificultad de movimientos y pérdida de funciones vitales progresivas que llega a ser invalidante en dos años, pudiendo ocasionar la muerte por enfermedad concomitante casi siempre de tipo infeccioso respiratorio. El diagnóstico histológico se realiza mediante biopsia o con mayor certeza por la autopsia clínica, siendo la degeneración mielínica de la sustancia blanca del SNC y Cerebelo, así como, la presencia de las fibras de Rosenthal, lo más característico. El diagnóstico definitivo se debe hacer por técnicas Moleculares mediante la identificación de la mutación correspondiente del gen de la PAGF relacionada con el metabolismo de las células astrocitarias, así como, por el estudio inmunohistoquímico de las proteínas hsp propias de la enfermedad conformacional o malplegamiento de la PAGF.

## OBJETIVOS:

Con la finalidad de estudiar la de Enf. de Alexander del Adulto, presentamos un caso de Autopsia de esta lesión cerebelosa con estudio inmunohistoquímico y molecular.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Paciente mujer de 63 años. Se le practica la autopsia y se hace estudio histológico convencional. Las técnicas inmunohistoquímicas de hsp27, PAGF y Neurofilamentos se realizan mediante Kit Envisión Flex Mini de Dako usando mAbs hsp27(1/200), PAGF (1/100) y Neurofilamentos (1/200). El procedimiento molecular se realian mediante extracción de ADN por método convencional, amplificación por PCR del exón 1 del gen de PAGF, mediante los primers correspondientes 5´-3´ ATGGAGAGGAGACGCATCA y 3´-5´ CCTCCTCACTTCTGCCTCAC y posterior secuenciación del producto.

## RESULTADOS:

Paciente mujer de 63 años con síndrome cerebeloso de dos años de evolución que fallece por bronconeumonía bilateral y a la que se le practica la Autopsia Clínica. Anteriormente se le realizó Resonancia Magnética (RM) que mostró densidad a nivel de Cerebelo y Tronco Encefálico, con el diagnóstico previo de Tumora-ción cerebelosa. El estudio histológico de Cerebelo y Tronco Encefálico mostró degeneración mielínica de la sustancia blanca y abundante presencia de Fibras de Rosenthal. No se detectaron neoplasias. Las técnicas Inmunohistoquímicas aportaron positividad abundante para la PAGF en las citadas fibras engrosadas, Neurofilamentos y hsp27. La secuenciación del Exon 1 del gen de la PAGF reveló una mutación puntual en uno de los alelos consistente en la sustitución en el nucleótido 382 de una G por A (GCTC ATCA) lo que conlleva la alteración del codón para aminoácidos en Asp 128 Asn.

## CONCLUSIONES:

La enfermedad de Alexander es una rara entidad neurológica propia de niños con rto componente hereditario. La forma del adulto es esporádica. Su diagnóstico definitivo se realiza por Anatomía Patológica, casi siempre por Autopsia Clínica. El signo principal es la degeneración mielínica de la sustancia blanca cerebelosa con las Fibras de Rosenthal. La Inmunohistoquímica muestra depósitos engrosados de PAGF y proteínas de tipo conformacional como la hsp27. Hemos detectado la mutación puntual G/A 382 en el Exon1 del gen de la PGAF como causa de la enfermedad.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 154**

### DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE VRK2 Y ESTUDIO DE VARIABLES BIOLÓGICAS EN CÁNCER DE PRÒSTATA COMO FACTORES PRONÓSTICOS

*Autor/a/s: López Overa, Sonia; García Martínez, Mª Isabel; Gervás Ríos, Ruth; Pérez-Fontán Fdez., José Fernando; Monescillo Martín, Mª Gracia; Porras Trigo, Mª Francisca; Mª Antonia Núñez García; Antúnez Plaza, Patricia*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario de Salamanca*

*Localidad: SALAMANCA*

*Correo electrónico del primer firmante: soy.sonia@hotmail.com*

## INTRODUCCIÓN:

El carcinoma de próstata representa el 13,5% de todos los tumores masculinos. La incidencia en España, es similar al resto de países desarrollados, (tasa ajustada mundial en 2008: 57 nuevos casos/100.000 habitantes/año). Aquí es el primer tumor en frecuencia entre los hombres, seguido por el cáncer de pulmón. Se puede considerar un tumor propio de edades avanzadas. La mayoría de los casos se diagnostican entre los 60 y los 80 años, con un máximo entre los 70 y los 75, aunque hay un número significativo de casos desde los 50 años.

Es fundamental distinguir los tumores potencialmente letales de aquellos relativamente indolentes. El uso de marcadores pronósticos es crucial para esta tarea. En la actualidad se busca mejorar las predicciones biológicas del carcinoma de próstata mediante la incorporación de marcadores moleculares.

En esta última década se ha investigado sobre los posibles indicadores pronósticos en adenocarcinoma prostático que puedan discriminar a aquellos pacientes que presenten recurrencias tras prostatectomía radical y que se puedan beneficiar de algún tratamiento adyuvante.

Las proteínas VRK1 y VRK2 han sido estudiadas fundamentalmente en cáncer de mama, en carcinomas escamosos del área orofaríngea y pulmonar, así como en alguna serie de astrocitomas. En todos los estudios se trató de encontrar un valor pronóstico en la expresión cuantitativa de estos marcadores inmunohistoquími-

cos, para poder filiar grupos de mejor o peor pronóstico que intervienen en el mecanismo proliferativo celular.

#### **OBJETIVOS:**

Por no existir estudios de correlación significativos en la literatura, entre estas proteínas y el adenocarcinoma de próstata, realizamos este estudio retrospectivo con el fin de hallar alguna relación en este tipo de tumores.

Según esto planteamos la siguiente hipótesis: si existe inmuno expresión marcada de VRK1 y VRK2 en tumores de próstata, los niveles de expresión podrían ser utilizados como marcadores pronósticos en la evolución clínica de la enfermedad (considerando el grado Gleason como valor de mejor/peor supervivencia)

#### **MATERIAL Y MÉTODOS:**

Seleccionamos 80 casos sometidos a prostatectomía radical durante el año 2012 con diagnóstico de adenocarcinoma acinar prostático. Todos ellos fueron estudiados en el Hospital Clínico de Salamanca. De los 80 casos, 10 de ellos no fueron representativos por lo que finalmente se contabilizaron 70 casos.

El estudio inmunohistoquímico se realizó sobre material fijado en formol e incluido en parafina, sobre secciones colocadas en portaobjetos.

Se utilizaron: el anticuerpo Ki67 en una dilución 1:100, cuyo clon es MIB-1; VRK2 y VRK1 en una dilución 1:100.

Para valorar la expresión de Ki67 el criterio que se llevó a cabo fue <20% (negativos) y >20% (positivos) y para VRK1 y VRK2 se valoró positivo (+) y negativo (-) según la inmunotinción.

#### **RESULTADOS:**

- Todos los resultados inmunohistoquímicos de expresión de VRK-1 resultaron negativos, no encontrando inmunotinción.

- De todas las biopsias el 21% (15 de 70) fueron negativas y el 79% (55 de 70) positivas para VRK-2.

- Todos los resultados inmunohistoquímicos de expresión de Ki67 resultaron negativos (<20%), no encontrando inmunotinción.

#### **CONCLUSIONES:**

1. En nuestra serie de pacientes, existe un grupo que presenta una mayor expresión de la proteína VRK2, los tumores pobremente diferenciados (Gleason 7-8).
2. Una mayor expresión de VRK2, supone una mayor tasa de proliferación en los tumores, actuando por una mayor inhibición de la respuesta celular al estrés por hipoxia.
3. Al no existir inmunoexpresión de VRK1 en ninguno de los pacientes de nuestro estudio, podemos estimar que el mecanismo de proliferación predominante no se debe a un aumento de las células en fase G0.
4. Al no existir significación estadística entre VRK2 y variables clínicas, podemos únicamente hablar de tendencias entre estas variables de nuestra serie.
5. Si hubiéramos incluido en nuestro estudio un mayor número de casos que amplíe el abanico de la escala de Gleason, podríamos habernos acercado a la significación estadística.
6. El estudio profundo de estas proteínas y su mecanismo de actuación íntimamente ensamblado con otras moléculas de ciclo celular (p53, p63, p21, Cox...), nos abren las puertas para continuar con este estudio.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 156**

#### **APLICACIÓN DE LA TÉCNICA INMUNOHISTOQUÍMICA DUAL KI67/P16 EN EL CRIBADO DE LAS LESIONES INTRAEPITELIALES CÉRVICO-ANALES**

*Autor/a/s: SEGURA PÉREZ ANA MARÍA, GUTIERREZ ARIZA MARINA, FOCHE ORDÓÑEZ ANA ISABEL, ESQUIVIAS LOPEZ-CUERVO JOSE JAVIER*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES*

*Localidad: GRANADA*

*Correo electrónico del primer firmante: anichu29@hotmail.com*

#### **RESUMEN:**

APLICACIÓN DE LA TÉCNICA INMUNOHISTOQUÍMICA DUAL KI67/p16 EN EL CRIBADO DE LAS LESIONES INTRAEPITELIALES CÉRVICO-ANALES

UNIDAD PROVINCIAL INTERCENTROS DE GRANADA DE ANATOMIA PATOLÓGICA

HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES, SERVICIO DE ANATOMIA PATOLÓGICA

Ana Segura Pérez, Marina Gutiérrez Ariza, Ana Foche Ordóñez.

#### **INTRODUCCIÓN:**

El virus del papiloma Humano (VPH) es un virus de transmisión sexual que produce cáncer anogenital. La forma más eficaz de combatirlo es a través de la prevención secundaria mediante la citología exfoliativa y/o la detección del virus por métodos moleculares.

El efecto oncogénico del VPH se debe a la interacción de las oncoproteínas E6 y E7 virales que interfieren en ciclo celular inutilizando a las proteínas encargadas de inhibirlo, fundamentalmente p53 y pRb (Proteína del Retinoblastoma) junto con la proteína p16.

Cuando el virus y las células escamosas interaccionan la proteína E6 vírica degrada la proteína p53 de la célula y la proteína E7 vírica degrada la proteína pRb celular. La inhibición de pRb conlleva el bloqueo de p16 (ya que entre ellas existe un sistema de regulación "feedback") provocando que esta última no realice su función de control y regulación del Ciclo Celular, de forma que pasa a acumularse dentro de la célula. La proteína P16, que puede ser detectada con técnicas de inmunohistoquímica, está correlacionada con la presencia de HPV.

Las células durante su ciclo normal no expresan p16; sólo son positivas a p16 aquellas en fase divisional cuyo ciclo celular es anómalo, habitualmente por alteración oncogénica. Por tanto la presencia de doble tinción frente a marcadores de proliferación y p16 es indicativa de su atipicidad debido a la integración del genoma viral en su DNA, lo que las convierte en candidatas a desarrollar lesiones susceptibles de progresar a carcinoma invasivo.

#### **OBJETIVO:**

Se efectúa tinción dual en citologías y biopsias de cérvix y ano con objeto de comprobar la correlación entre la positividad frente a p16/Ki67 y el grado de lesión. Por otra parte se pretende desarrollar un método objetivo basado en análisis de imagen para clasificar las lesiones epiteliales teniendo en cuenta la positividad a Ki67

#### **MATERIAL Y MÉTODOS:**

Se realiza tinción Dual ki67/p16 a biopsias de 2,5 micras de grosor de cérvix y ano, también a casos de citología en medio líquido con criterios de ASCUS, SIL BG vs SIL AG, así como en casos de biopsias de cérvix y ano (CIN 1, AIN1) y CIN/AIN 2-3 y Carcinoma escamoso invasivo como control.

Los anticuerpos primarios utilizados han sido Ki67 monoclonal Mouse Anti-Human Clone MIB-1 (Dako, Glostrup, Denmark) y p16-Ink 4 Purified Mouse Anti-Human Clone G175-405 (BD Pharmingen, New Jersey, USA).

Se realiza recuperación antigénica en baño de incubación a 96° C Pt-Link a pH 9 y posteriormente se lleva a cabo la tinción inmunohistoquímica siguiendo el protocolo general del laboratorio que utiliza el sistema de revelado "EnVision Flex+, Mouse High pH" (Dako). Para dicha tinción se usa el inmunotendidor "Autostainer Link 48" (Dako). El anticuerpo Ki67 es revelado con DAB (diaminobencidina), que muestra un color pardo oscuro. El anticuerpo p16 se revela con AEC+ (3-amino-9-ethylcarbazole), de visualización rojo intenso. Como contratinción nuclear se ha empleado Hematoxilina de Harris. El montaje de las muestras se realiza en el medio acuoso Ultramount de Dako.

La clasificación de las biopsias según la positividad a Ki67/p16 se ha realizado foto de la preparación a 20X y se ha tratado la imagen con el software Image Tool. Los resultados de las mediciones se muestran en tabla Excel.

#### **RESULTADOS:**

Se ha efectuado tinción dual a 104 muestras (46 biopsias de ano, 34 de cérvix y 24 citologías exfoliativas). En el ano y cérvix las lesiones de bajo grado fueron mayoritariamente negativas a p16 (33 de 36 AIN1/CIN1; 21 de 21 biopsias sin cambios), mientras que de 20 biopsias AIN /CIN 2 y 3, 14 fueron positivas a p16. Tres casos de carcinoma epidermoide mostraron intensa y extensa positividad. Pero en las citologías cervicales, de 19 casos catalogados como SIL BG, 12 fueron positivos a p16. Se adjunta tabla de Test Fisher e imágenes.

#### **CONCLUSIONES:**

La tinción dual Ki67/p16 resta variabilidad interobservador a la interpretación de estas lesiones de estas lesiones.

La tinción dual Ki67/p16 se muestra muy útil para discriminar casos dudosos y para incrementar la eficacia de la citología y biopsia en las lesiones por VPH.

El método desarrollado para clasificar las lesiones cervicales mediante análisis de imagen es de fácil manejo y permite diagnósticos reproducibles.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 159**

### **LA IMPORTANCIA DE LA IFD PARA EL DIAGNÓSTICO DE LAS DERMATOSIS INFLAMATORIAS. PAPEL DEL TÉCNICO SUPERIOR DE ANATOMÍA PATOLÓGICA A PROPÓSITO DE UN CASO DE DERMATITIS HERMETIFORME (DH)**

*Autor/a/s: Marina Camila Gutiérrez Ariza, Ana María Segura Pérez, Pilar Muñoz Pareja, María Lucía Ibañez Guerrero, Aurelio Martín Castro*

*Centro de trabajo: H.U. Virgen de las Nieves*

*Localidad: Granada*

*Correo electrónico del primer firmante: maguar00@gmail.com*

#### **INTRODUCCIÓN:**

Hasta ahora la participación del Técnico superior de Laboratorio de Anatomía Patológica (TSAPC) en el apoyo diagnóstico de las dermatosis inflamatorias se ha limitado a la realización técnica de los procedimientos de laboratorio entre los que se cuenta la inmunofluorescencia directa. En este momento, sin embargo, y amparado por las mayores competencias en los procesos de asistencia a los pacientes atribuidas a los TSAPC se dan las condiciones óptimas para que se produzca su incorporación progresiva al apoyo del patólogo en sus tareas diagnósticas.

#### **OBJETIVO:**

Presentamos un caso clínico perteneciente al servicio de Anatomía Patológica del HU Virgen de las Nieves, de un varón con lesiones cutáneas sospechosas de DH, al que se le realizan biopsias. En el estudio de hematoxilina-eosina, no se determina un diagnóstico de certeza. El estudio de inmunofluorescencia directa permite establecer el diagnóstico definitivo.

#### **MATERIAL Y MÉTODOS:**

A partir del caso de dermatitis herpetiforme se plantea una nueva forma de colaboración del TSAPC con el patólogo basada en:

- 1) El procesamiento personal macroscópico por el TSAPC de la biopsia punch cutánea o incisionales previa a su corte en el criostato.
- 2) Realización de la técnica siguiendo el protocolo abajo indicado, (actualmente, nuestro centro está en proceso de automatización completa del procedimiento de inmunofluorescencia directa en robots de inmunotinción incluyendo todos los controles de calidad necesarios).
- 3) La observación compartida de las preparaciones junto al dermatopatólogo con encargo específico al TSAPC de la realización, gestión y archivo de las microfotografías.

Actualmente, la elaboración de la técnica de tinción en el servicio de Anatomía Patológica del HU Virgen de las Nieves se realiza de forma manual siguiendo el siguiente protocolo:

- Corte al criostato en frío de la muestra en congelación incluida en OCT.
- Tinción de un corte con hematoxilina-eosina
- Fijación de seis cortes en acetona 10 min.
- Dejar secar 10 min.
- Colocar los cortes en una caja que forme cámara húmeda.
- Realizar tres lavados con PBS de 10 min cada uno.
- Bañar el tejido con el anticuerpo (Ac) correspondiente: IgA, IgG, IgM, C3, C4 o fibrinógeno durante 30 min.
- Realizar tres lavados con PBS de 10 min cada uno.
- Montar en medio acuoso.

#### **RESULTADOS:**

Fotografía de HE: úlcera de características inespecíficas.

Fotografía de IF directa: débil depósito granular de IgA en la unión dermoepidérmica.

#### **CONCLUSIONES:**

En el uso de la inmunofluorescencia, que es determinante en el diagnóstico de determinadas patologías cutáneas, especialmente en el caso clínico expuesto, el papel del TSAPC es relevante y puede contribuir a mejorar la eficiencia y disponibilidad diagnóstica del dermatopatólogo.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 160**

### **CONSTRUCCIÓN DE TEJIDOS TRIDIMENSIONALES DE LA SUPERFICIE OCULAR USANDO MATRICES DE FIBRINA**

*Autor/a/s: Antonio López-García, Laura García-Posadas, Laura Soriano-Romaní, Yolanda Diebold.*

*Centro de trabajo: INSTITUTO UNIVERSITARIO DE OFTALMOBIOLOGÍA APLICADA (IOBA),*

*Localidad: VALLADOLID*

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

#### **INTRODUCCIÓN:**

La conjuntiva es un tejido de la superficie ocular que se ve afectado en múltiples patologías. Dada la escasez de modelos in vitro adecuados para su estudio, nuestro grupo de trabajo está desarrollando modelos más complejos, usando biomateriales como soporte para el crecimiento celular.

#### **OBJETIVO:**

Crear un modelo tridimensional in vitro de conjuntiva humana.

#### **MATERIAL Y MÉTODOS:**

Se obtuvieron células epiteliales y fibroblastos conjuntivales humanos procedentes de donantes cadáver. Las células fueron crecidas en matrices biocompatibles preparadas a partir de fibrina humana. Las matrices se hicieron usando plasma o crioprecipitado, con una concentración final de fibrinógeno de 1,5 mg/ml. Los fibroblastos se incorporaron al interior de las matrices y las células epiteliales se sembraron en la parte superior. Las construcciones completas, con ambos tipos celulares incorporados, se mantuvieron hasta 14 días y se evaluaron diferentes parámetros. La proliferación celular en las matrices se midió mediante Alamar-Blue® a los 3 y 7 días. Para caracterizar morfológicamente las matrices completas se fijaron con paraformaldehído al 4% a los 3, 7 y 14 días para posteriormente hacer la inclusión en parafina. Mediante la tinción de rutina Hematoxilina/Eosina se observó la morfología celular. Además, se analizaron diversos marcadores por inmunofluorescencia, relacionados con el fenotipo de las células epiteliales (la citoqueratina CK-19, específica de epitelio conjuntival, y la lectina HPA, que identifica glucoconjugados secretados por las células caliciformes de la conjuntiva) y con la capacidad proliferativa de las células tras sembrarse en la matriz (Ki67).

#### **RESULTADOS:**

Las construcciones tridimensionales mostraron una consistencia similar a la del tejido conjuntival humano. Las matrices de fibrina elaboradas a partir de plasma o de crioprecipitado permitieron el crecimiento de células de la conjuntiva (fibroblastos dentro de la matriz y las células epiteliales en la parte superior). Las células epiteliales fueron capaces de estratificar, identificándose hasta un máximo de cuatro capas a los 14 días en cultivo. La tasa de proliferación de los fibroblastos fue mayor en las matrices de plasma que en las de crioprecipitado (1,95 veces mayor a los 3 días,  $p = 0,004$ ). Por el contrario, las células epiteliales mostraron mayor tasa de proliferación cuando se cultivaron sobre crioprecipitado que cuando se hizo sobre plasma (1,28 veces mayor a los 3 días,  $p = 0,022$ ). Las células epiteliales mantuvieron su fenotipo (CK19+) durante todo el tiempo que se mantuvieron en cultivo. Además, se encontraron algunas células secretoras y sus glicoconjugados de alto peso molecular fueron identificados como HPA+. Un pequeño porcentaje de las células epiteliales cultivadas en las matrices mantuvo su capacidad proliferativa medida por inmunodetección de Ki67.

#### **CONCLUSIONES:**

De acuerdo con nuestros resultados, es posible crear in vitro a una estructura tridimensional similar al tejido de la conjuntiva ocular humana, a partir de matrices de fibrina en la que las células mantienen su fenotipo y capacidad proliferativa durante, al menos, dos semanas.

## FINANCIACIÓN:

FEDER-CICYT MAT2010-20452 CO3-01 y Programa de Becas FPI (Ministerio de Ciencia e Innovación, España).

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 161

### REALIZACIÓN DE TÉCNICAS DE INMUNOCITOQUÍMICA EN EXTENSIONES CITOLÓGICAS NO FIJADAS EN ALCOHOL PARA DIAGNÓSTICO DEL CARCINOMA BRONCOGÉNICO

Autor/a/s: Pilar Muñoz Pareja, Marina Camila Gutiérrez Ariza, Rodrigo López Castro, Eduardo Villar Álvarez

Centro de trabajo: H.U. Virgen de las Nieves

Localidad: Granada

Correo electrónico del primer firmante: pilimp32@yahoo.es

## INTRODUCCIÓN:

Los estudios mediante PAAF, dirigida por EBUS con la presencia de citopatólogo y TSAPC, de masas pulmonares y ganglios linfáticos mediastínicos, permite aumentar el rendimiento diagnóstico en la detección de cáncer primario de pulmón. El material obtenido, se tiñe mediante una tinción rápida (Diff-Quick), para evaluar su adecuación y cantidad para el diagnóstico. Este material, en general, no resulta adecuado para realizar técnicas de inmunocitoquímica, debido a una deficiente fijación. Sin embargo, en algunos casos, como el Carcinoma Broncoagénico, la realización de técnicas inmunocitoquímicas nucleares, como TTF1 (Factor de Transcripción Tiroidea) puede ser determinante para el diagnóstico.

## OBJETIVOS:

Estas técnicas de inmunocitoquímica se pueden realizar: sobre material teñido con Diff Quick así como, sobre extensiones ya fijadas en alcohol y posteriormente teñidas con Papanicolaou.

Estudiamos los resultados de la realización de técnicas de inmunocitoquímica para la expresión de TTF1 en material utilizado previamente para tinción mediante Diff-Quick, comparándolos con los obtenidos en material fijado en alcohol de 96° y posteriormente teñido mediante técnica de Papanicolaou

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Tinción con Diff-Quick: Se utilizan 3 reactivos: 1- Fijador (alcohol metílico), 2- Solución acuosa de eosina 3- solución acuosa de azul de metileno. Agitar brevemente en cada solución y dejar durante un minuto en cada uno de ellos, lavar en agua.

Las técnicas de inmunocitoquímica se realizan de manera automatizada, en la máquina: Autostainer Link 48 DAKO, usando con anticuerpo: TTF1 (Flex Monoclonal Mouse Anti- Thyroid Transcription Factor, clone 86763/1).

Protocolo de tinción de IHQ: lavar con buffer entre cada paso, sabido esto:

- Bloqueador peroxidasa 5 min.
- Ac primario TTF1 20 min.
- Ac secundario conjugado horseradish peroxidase (HRP) 20 min.
- Revelado con diaminobencidina (DAB) DAB 10 min.
- Contratinción con Hematoxilina (Hx) 5 min.
- Deshidratar y montar con medio de montaje (DPX).

Se utiliza el protocolo establecido en Hospital Universitario Virgen de las Nieves, servicio Anatomía Patológica. (Granada).

## RESULTADOS:

Se realiza un estudio en muestras de cepillado bronquial y PAAF de pulmón y ganglios linfáticos mediastínicos (EBUS), realizadas entre Enero 2013- Febrero 2014. Se comparan los resultados obtenidos en las extensiones previamente teñidas con Diff-Quick, con los obtenidos en las fijadas en alcohol y teñidas con Papanicolaou. Consultar los resultados en la Tabla 1.

## CONCLUSIONES:

Aunque el uso de técnicas de inmunocitoquímica para extensiones de PAAF teñidas previamente con Diff-Quick, no están incorporadas a la tinciones de rutina, para el diagnóstico del Carcinoma Broncoagénico, pueden ser de gran interés para la emisión final de un diagnóstico concluyente por parte del Patólogo.

La realización de estas técnicas alternativas precisa de formación específica del personal técnico, tanto para la realización junto al patólogo de la PAAF, como para la realización de técnicas inmunocitoquímicas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 162

### REALIZACIÓN DE TÉCNICAS ESPECIALES DE INMUNOHISTOQUÍMICA PARA EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL EN PATOLOGÍA DERMATOLÓGICA.

Autor/a/s: FOCHE ORDOÑEZ ANA ISABEL, MUÑOZ PAREJA PILAR, LOPEZ CASTRO RODRIGO, GUERRERO PEÑA INES.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES

Localidad: GRANADA

Correo electrónico del primer firmante: aniya\_1988@hotmail.com

## RESUMEN:

TITULO: REALIZACION DE TÉCNICAS ESPECIALES DE INMUNOHISTOQUÍMICA PARA EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL EN PATOLOGÍA DERMATOLÓGICA.

POSTER.

AUTORES: Ana Foché Ordoñez, Pilar Muñoz Pareja, Rodrigo López Castro, Ines Guerrero Peña

EMAIL Y TLF DE CONTACTO: Email: aniya\_1988@hotmail.com, TLF: 637 980 635

## INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS:

El procedimiento de rutina, en la realización de técnicas inmunohistoquímicas en los laboratorios de anatomía patológica, es el revelado con el cromógeno DAB (diaminobencidina), que produce un color pardo intenso para su visualización en el microscopio. En biopsias cutáneas con presencia de melanina esta tonalidad puede provocar falsos positivos por la coloración similar de este pigmento a la tinción con DAB.

Para evitar esos falsos positivos pueden utilizarse técnicas alternativas de inmunohistoquímica (IHQ) consideradas de uso complementario, como la inmunofluorescencia, el revelado con AEC (aminoetilcarbazol), un cromógeno de color rojo tras el revelado o el nitroazul de tetrazolol, de color azul, lo que permite el revelado con coloraciones diferentes a la melanina y evita posibles confusiones diagnósticas y los falsos positivos.

Otra opción alternativa si se utiliza la DAB como cromógeno es emplear Giemsa como contratinción en lugar de hematoxilina ya que, de este modo, es posible visualizar con claridad las células melánicas positivas teñidas de color pardo con la DAB de los melanófagos, que adquieren un color verdoso con el Giemsa.

Nuestro propósito en este póster es mostrar los protocolos de tinción establecidos en estos casos en la Unidad provincial Intercentros de Anatomía Patológica de Granada.

## METODOLOGÍA:

De una manera resumida se puede decir que en la actualidad la utilización de técnicas inmunohistoquímicas va dirigida a:

- Determinar la estirpe o diferenciación de una neoplasia.
- Precisar el pronóstico de la neoplasia.
- Diferenciar procesos neoplásicos benignos de malignos.
- Establecer la arquitectura molecular de un tejido.
- Detectar agentes infecciosos en las células o tejidos.

A continuación explicamos los procedimientos de las técnicas alternativas posibles para diferenciar con claridad la melanina a diferencia del procedimiento de rutina utilizando DAB como cromógeno de revelado. Para su demostración hemos aplicado dichas técnicas a casos dermatológicos con células melánicas (ver imágenes).

### TINCIÓN CON DAB AEC FLUORESCENCIA

Lavar con buffer entre paso y paso, una vez realizado esto:

1. Recuperación antigénica en baño de incubación termostataizado a 96° C.
2. Bloqueador peroxidasa 5 min.
3. Ac primario 20 min.
4. Ac secundario conjugado horseradish peroxidase (HRP) 20 min.

5. Revelado con DAB 10 min.
6. Contraintinción con Giemsa.
7. Deshidratar y montar con DPX.

#### AEC

Lavar con Buffer entre paso y paso, una vez realizado esto:

1. Recuperación antigénica en baño de incubación termostático a 96° C.
2. Incubar con Ac primario. 20 min
3. Ac secundario conjugado horseradish peroxidase (HRP) 20 min.
4. Revelar con AEC. 30 min
5. Contraintinción con Hx (hematoxilina). 5 min.
6. Lavar con agua corriente y montar en medio acuoso.

#### FLUORESCENCIA

1. Cortes en criostato.
2. 10 min en acetona.
3. Secar al aire.
4. Tres lavados de PBS (de 10 min cada uno).
5. 30 min Ac. Primario marcado con FITC
6. Tres lavados de PBS (de 10 min cada uno).
7. Montar en medio acuoso.

#### RESULTADOS:

AEC: visualización al microscopio con una coloración rojiza.

Fluorescencia: visualización al microscopio con una coloración verde-manzana.  
Tinción con DAB utilizando como contraintinción el Giemsa: color marrón, mientras que los melanófagos adquieren un color verdoso.

#### CONCLUSIONES:

Estas técnicas son muy útiles para el diagnóstico de lesiones cutáneas, ya que no dan lugar a falsos positivos por el color marrón de la DAB similar al de la melanina.

La realización de estas técnicas menos comunes pero fundamentales para el diagnóstico exige que el Técnico de Anatomía Patológica este en una continua formación y reciclaje, siendo capaz de adaptarse en cualquier momento a la realización e incorporación de técnicas distintas a la de rutina.

*Resumen Comunicación Científica -PANEL*

**Número: 163**

### MUTACION EGFR EN CANCER DE PULMON: NUESTRA EXPERIENCIA EN DOS AÑOS

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

*Centro de trabajo: HOSPITAL VIRGEN DE LA CONCHA*

*Localidad: ZAMORA*

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

#### INTRODUCCIÓN:

La mutación EGFR es una prueba diagnóstica basada en una PCR a tiempo real que identifica 41 mutaciones en los exones 18,19,20 y 21 del gen EGFR.

Dicha prueba se realiza para la selección de pacientes que pueden ser tratados con moléculas pequeñas inhibitoras de la actividad de la tirosin-cinasa (TKI) del gen EGFR.

#### OBJETIVO:

Estimar la prevalencia de mutación EGFR en carcinomas de pulmón no microcítico en el Complejo Asistencial de Zamora, para seleccionar pacientes que van a ser tratados con inhibidores de la tirosin-cinasa.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Material: 64 casos de pacientes diagnosticados de carcinoma de pulmón no mi-

crocítico (CPCNP) entre noviembre de 2012 y año 2013, en material procedente de biopsia (transbronquial y BAG) y punción (PAAF).

Método: la determinación del EGFR se lleva a cabo en cuatro fases: 1ª extracción de ADN, 2ª amplificación y detección de ADN, 3ª análisis de resultados y 4ª emisión del informe. Cuya realización es a través del sistema COBAS.

#### RESULTADOS:

De los 64 casos de carcinoma de pulmón: 33 son adenocarcinomas, 26 carcinomas epidermoides, 4 carcinomas no clasificables (NOS) y 1 carcinoma sarcomatoide. Obteniéndose 5 casos mutados de EGFR lo que supone un 8%. Dentro del tipo histológico ha habido mayor porcentaje en mutación de EGFR en adenocarcinomas un 12% que en carcinomas epidermoides un 4%.

#### CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN:

La mutación del gen EGFR es un método útil en la práctica clínica porque permite seleccionar pacientes que pueden ser candidatos a tratamientos específicos. En nuestra serie hemos encontrado mayor porcentaje de mutaciones en adenocarcinomas que en carcinomas epidermoides, de acuerdo con lo escrito en la literatura.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 167**

### PAPEL DE LA CITOLOGIA EN LA RUTINA DEL BIOBANCO

*Autor/a/s: RAQUEL GONZALEZ MARTINEZ/ BARBARA FERNANDEZ HEVIA/ CRUZ RODIL ALVAREZ/ FELIX MIGUEL MATILLA MATILLA/ MARIA LOURDES RODRIGUEZ CASADO/ BEATRIZ CASTAÑON FERNANDEZ/ CRISTINA DIEZ TASCÓN/ RAQUEL DIAZ GRANDA/ TERESA RIBAS ARIÑO*

*Centro de trabajo: COMPLEJO ASISTENCIAL UNIVERSITARIO DE LEON*

*Localidad: LEON*

*Correo electrónico del primer firmante: rgonzalezma@saludcastillayleon.es*

#### INTRODUCCIÓN:

Los biobancos son un recurso esencial para el avance de la investigación biomédica, permitiendo suministrar tejidos de calidad óptima a proyectos de investigación que cumplan determinados requerimientos científicos y éticos. Es por tanto imprescindible garantizar la calidad e idoneidad de las muestras que se almacenan en el biobanco hasta el momento de su cesión. Desde el punto de vista metodológico, se debe disponer de un sistema rutinario que permita verificar que el tejido que se custodia es realmente un tejido tumoral. En este sentido, la realización de una extensión citológica en el momento de la toma de muestra, para su posterior evaluación microscópica, puede facilitar el proceso. No obstante, ocasionalmente la citología no confirma la naturaleza tumoral del tejido, y debe efectuarse un corte histológico de comprobación. Las causas de no confirmación citológica del tumor suelen ser: (a) Muestras obtenidas en un área de necrosis (b) Tumores muy desmoplásicos. (c) Tumores de partes blandas de estirpe adiposa (d) Muestras con un área de fibrosis. (e) Muestras de la zona peritumoral. Por otra parte, en diversas y frecuentes ocasiones, el facultativo que revisa las muestras selecciona casos interesantes, raros o complejos, que se utilizan para formación MIR o son presentados en las sesiones del servicio, lo que supone una ventaja adicional de este procedimiento.

#### OBJETIVOS:

En este trabajo nos planteamos valorar la utilidad de la citología como metodología de rutina para establecer la idoneidad de las muestras del biobanco del Hospital Universitario de León, perteneciente a la red BEOCyL.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Durante un periodo de 8 años se revisan las muestras citológicas de las tomas de excedentes del proceso diagnóstico recogidas con el fin de ser almacenadas en el biobanco. Estas extensiones fueron teñidas con la técnica de Papanicolau y evaluadas por un patólogo experimentado. Se contabiliza el número de muestras que no han pasado el control citológico, necesiándose la revisión de un corte histológico teñido con hematoxilina/eosina, y estimándose la proporción de ellas que han resultado válidas tras la visualización del corte.

#### RESULTADOS:

Durante los ocho años de periodo de funcionamiento del biobanco, fueron recogidas un total de 2038 muestras, procedentes de los servicios hospitalarios de Cirugía General (1489) Ginecología (201), Urología (319) Otorrinolaringología

(57) y Neurocirugía (246). Del total de muestras recogidas, fue necesario solicitar el corte de comprobación en 261 casos (5,39%) con una eliminación final de 141 casos (2,87%).

#### CONCLUSIONES:

La impronta citológica es un excelente medio para confirmar de manera rutinaria la naturaleza neoplásica del fragmento tumoral a custodiar por el biobanco. Este material es asimismo, de enorme utilidad en docencia, tanto para mantener el entrenamiento en la punción aspiración aguja fina, como para docencia pre y post graduado (MIR).

El costo económico de la muestra citológica es inferior al del corte histológico, fundamentalmente por el menor consumo de tiempo, aspecto también a tener en cuenta al escoger esta modalidad para el diagnóstico de las muestras.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 168**

#### UTILIDAD DE LA TINCIÓN DUAL CINTEC PLUS EN CITOLOGÍA GINECOLÓGICA

*Autor/a/s: POSADA POSADA MIGUEL ANGEL, LAGARTO BENITO MARIA JESÚS, GONZALEZ DE LA PARRA MARTA, MUÑIZ ROCES RAQUEL, GARCIA LAGARTO ELENA, PERAL MARTINEZ JOSÉ IGNACIO*

*Centro de trabajo: HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO VALLADOLID*

*Localidad: VALLADOLID*

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

#### INTRODUCCIÓN:

La técnica CINTEC PLUS es una tinción dual de los marcadores inmunohistoquímicos p16 y ki67.

La expresión p16 se encuentra en lesiones de bajo grado (LSIL) de cáncer cervical, asociadas a infección por HPV y en lesiones de alto grado (HSIL).

El ki67 es un factor de proliferación celular, que no distingue entre células proliferativas displásicas y células proliferativas normales.

La expresión dual permite seleccionar y marcar las células que tienen HPV de alto riesgo y que muestran alteración en la proliferación celular, por lo que es una buena herramienta de cribado para detectar lesiones de alto grado.

#### OBJETIVO:

Determinar si la expresión de p16 en lesiones equívocas del epitelio cervical ayuda a distinguir lesiones atípicas por HPV y lesiones atípicas no relacionadas con HPV.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

De un total de 3800 citologías de screening, fueron seleccionadas 235 para la realización del test HPV.

De esas 235, se seleccionaron 116 de HPV de alto riesgo para hacer determinación p16/ki67.

Una vez obtenida la preparación citológica en el procesador de citologías THIN- PREP 5000 de Hologic, se fijan en alcohol de 96° durante 15 minutos y posteriormente se introducen en alcohol absoluto durante una hora, a continuación se dejan secar durante una hora y se introducen en el autoanalizador con el anticuerpo primario p16/ki67 (CINTEC PLUS KIT, ROCHE).

Se observa una tinción marrón citoplásmica para el p16 y una tinción roja nuclear para el ki67.

#### RESULTADOS:

Observamos que si bien por edad no aumentaba significativamente el porcentaje de casos positivos, sí que aumentaba en función de la gravedad de la lesión previamente diagnosticada, oscilando entre el 45% para lesiones diagnosticadas previamente como ASC (6/14), y el 90% para lesiones diagnosticadas previamente como HSIL (58/64), obteniéndose un 74% de casos para LSIL (28/38).

#### CONCLUSIONES:

La inmunoreactividad de p16/ki67 no se relaciona con la edad y sí con la gravedad de la lesión previamente diagnosticada.

El uso de CINTEC PLUS es una ayuda para confirmar las lesiones de cérvix, elevando los porcentajes de fiabilidad diagnóstica en citología.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 169**

#### TÉCNICA DE CISH PARA LA DETECCIÓN DEL GEN HER2 EN CARCINOMAS DE MAMA Y GÁSTRICO EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO MIGUEL SERVET

*Autor/a/s: Gurrea Vidal Nuria y Malo Niévedes Verónica*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario Miguel Servet*

*Localidad: Zaragoza*

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

#### INTRODUCCIÓN:

Usamos la técnica de CISH (Chromogenic In Situ Hybridization) para la detección de amplificaciones del gen HER2, localizado en el cromosoma 17, en muestras de cáncer de mama y cáncer gástrico. El procedimiento que nos propone Dako, combina la técnica de FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) con un revelado inmunohistoquímico usando anticuerpos marcados con cromógenos dirigidos contra los fluorocromos que marcan las sondas, haciendo visibles los resultados con un microscopio óptico convencional.

#### OBJETIVOS:

Describir la técnica usada en nuestro laboratorio, junto con los problemas técnicos que nos hemos encontrado, y revisar los casos realizados durante el año 2013 en el Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza determinando el número de casos positivos para amplificación del gen HER2 en cáncer de mama, gástrico y metástasis.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Muestras: tejidos fijados en formol e incluidos en parafina.

Material de laboratorio: baño, microondas, portas, cubres, termómetro, coplins, agua destilada, Hybridizer, Autostainer, kit de reactivos de Dako.

Método: seguimos el protocolo de la casa Dako, que incluye los pasos de desparafinación e hidratación, pretratamiento, digestión con pepsina, deshidratación, hibridación con sondas marcadas, baño de astringencia, revelado y montaje.

#### RESULTADOS:

Al examinar las muestras debemos visualizar dos señales cromogénicas, una azul que marca los centrómeros, y otra roja que marca el gen. Si el número de señales rojas por núcleo es superior a dos se considera que la muestra está amplificada. Podemos encontrarnos problemas, como que no haya señal azul (fallo en el lavado de astringencia o mala dilución del cromógeno), falta de señal roja (digestión insuficiente), núcleos mal definidos (ligera sobredigestión) o con vacuolas (sobredigestión severa), etc., que habrá que detectar y solucionar haciendo cambios en las variables con las que contamos (tiempo de digestión, temperatura...).

Durante el año 2013 se han realizado en el Hospital Miguel Servet 64 determinaciones de CISH, de las cuales 53 son de mama, 5 de estómago y 6 de metástasis. Han resultado positivas para amplificación de HER2 9 casos de mama, 2 de estómago y ninguno de metástasis.

#### CONCLUSIONES:

La técnica de CISH es un método mediante el cual podemos evidenciar amplificaciones del gen HER2 en pacientes de cáncer mamario y gástrico de forma sencilla con la ayuda de un microscopio óptico. En el Hospital Miguel Servet nos ha permitido detectar 9 casos positivos para mama y 2 casos para estómago, ayudando a la elección del tratamiento más adecuado para estos pacientes.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 187**

#### LA POSTFIJACIÓN ALCOHÓLICA PROLONGADA PRESERVA ADECUADAMENTE LA ANTIGENICIDAD TISULAR

*Autor/a/s: EL-ABED LUQUE, FÁTIMA;PAYÁ COLMENERO, JORGE; MORENO SUÁREZ, ELENA; BARRANCO HERRERA, AURORA; RODRÍGUEZ MARTÍNEZ, MARÍA DOLORES*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO SAN CECILIO*

Localidad: GRANADA

Correo electrónico del primer firmante: FACTUMI@HOTMAIL.COM

### INTRODUCCIÓN:

La preservación tisular adecuada para realizar estudios inmunohistoquímicos de genómica y proteómica sigue siendo objeto de estudio. Se ha demostrado que tanto la fijación formólica como la inclusión en parafina tradicional son insuficientes para obtener resultados fiables y reproducibles con las nuevas técnicas diagnósticas y de investigación.

### OBJETIVOS:

Comprobar si diferentes condiciones de almacenamiento prolongado de los tejidos interfiere con la antigenicidad tisular.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Fueron estudiadas las siguientes muestras de tejido procedentes de autopsia anatómica de adulto con fijación controlada de 48 horas en formalina tamponada al 10%: amígdala, pulmón, riñón, páncreas, bazo y corazón.

Se establecieron tres grupos con las mismas muestras:

1. Inclusión en parafina y confección del bloque inmediata.
2. Inclusión en parafina y almacenaje de las muestras durante 2 años recubiertas en parafina solidificada en bolsas herméticas.
3. Sin incluir, mantenidas en alcohol etílico al 70% durante 2 años en frascos herméticos.

Tras dos años se confeccionaron matrices de tejido de 0.4cm de manera manual con el Quick-Ray (Tissue Microarray System).

La demostración de inmunorreactividad tisular se llevó a cabo mediante la determinación inmunohistoquímica en inmunoteñidor Autostainer480 de forma simultánea en todos los bloques con los anticuerpos monoclonales frente a vimentina, queratina CAM5.2 y sinaptofisina con técnica de micropolímero (Ultravision Quanto) revelado con diaminobencidina.

La cuantificación de la inmunotinción se realizó de manera semicuantitativa empleando una escala del 0 a 3+ para valorar la intensidad y número de células teñidas y de manera cuantitativa por análisis de imagen con el programa ImageJ para verificar la densidad óptica integrada.

### RESULTADOS:

Valorando los tejidos con tinción de hematoxilina-eosina, ninguno de los procedimientos empleados condujo a daño, retracción o alteración morfológica tisular. Las técnicas inmunohistoquímicas pusieron de manifiesto la conservación de la antigenicidad tisular con los tres métodos de almacenamiento prologado ensayados. La tinción citoplasmática fue intensa (3+) y específica en todos los casos para los antígenos estructurales citoqueratina y vimentina en todos los tejidos. Los niveles de densidad óptica fueron similares sin diferencias estadísticamente significativas para los tres anticuerpos.

### CONCLUSIONES:

El almacenamiento prolongado en alcohol de 70% mantiene las propiedades antigénicas tisulares y puede ser una alternativa para preservar las muestras para futuros estudios con proteómica.

complementaria (Histosonda) que irá marcada o como sucede en este caso posteriormente se tratará con un cromógeno y su enzima marcadora.

### OBJETIVOS:

Al realizar la técnica de hibridación in situ para EBER histosonda, lo que se pretende es poner de manifiesto aquellos núcleos que se han visto afectados por el virus de Epstein-Barr (virus del herpes HHV-4), facilitando el diagnóstico de dicha enfermedad.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Para realizar esta técnica sobre un corte de tejido incluido en parafina, primero debemos seguir los pasos habituales para una tinción histoquímica, es decir, desparafinación e hidratación.

- Se realiza una digestión enzimática para facilitar la posterior unión de la histosonda con las cadenas de ARN positivas, en este caso se lleva a cabo aplicando la enzima Proteinasa K.
- Lavado del porta en PBS, solución tampón a PH 7.
- Incubar la preparación con la histosonda diluida, una hora y cuarto a 62°C.
- Lavar de nuevo con PBS.
- Revelado de la sonda:
- Tras lavar abundantemente la preparación con TBS se aplica un bloqueante de la peroxidasa endógena, agua oxigenada, durante 10 minutos.
- Se aplican 150 microlitros del anticuerpo primario, antidigoxigenina durante 30 minutos, en una cámara que mantenga la humedad.
- Lavar con abundante TBS durante 2 minutos.
- Aplicar el polímero, anticuerpo secundario más la peroxidasa durante 20 minutos.
- Lavar con solución tampón durante al menos 2 minutos.
- Aplicar la solución diluida de diaminobenzidina durante 10 minutos.
- Lavar con abundante TBS.
- Por último y para poder observar las distintas estructuras tisulares se contrastará con hematoxilina durante un minuto.

### RESULTADOS:

Para realizar esta técnica debemos tener en cuenta que todos los factores, todos los pasos seguidos en el proceso, son muy influyentes sobre el resultado final de la técnica, por ello es necesario llevarla a cabo con la mayor delicadeza posible y siendo fiel al protocolo establecido. Debido a esta delicadeza se debe usar siempre un control positivo que verificará la fiabilidad de los resultados obtenidos.

La expresión oncogénica en esta técnica se verá reflejada en los núcleos de las células, principalmente los linfocitos B, con una coloración marrón.

### CONCLUSIÓN:

El uso de la técnica de hibridación in situ para determinación del virus de Epstein-Barr se ha convertido en una práctica muy habitual en el laboratorio, ya que empleando la técnica inmunohistoquímica establecida para este fin (LMP1) los resultados obtenidos no son fiables.

Esta técnica es imprescindible para descartar ciertos tumores.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 202

### HISTOSONDA PARA LA DETERMINACIÓN DEL VIRUS DE EPSTEIN-BARR

Autor/a/s: Aurora Barranco Herrera, Fátima El-Abed Luque, Elena Moreno Suárez y M<sup>a</sup> Dolores Martínez Rubia.

Centro de trabajo: Hospital Universitario San Cecilio

Localidad: Granada

Correo electrónico del primer firmante: f92bahea@gmail.com

### INTRODUCCIÓN:

La Hibridación in situ no es una técnica muy común en los laboratorios clínicos, sin embargo su utilidad es de gran importancia, ya que su estudio facilita mucho la determinación de las patologías de tipo genético. La hibridación in situ consiste en la unión de las cadenas de ADN o ARN, ARN en este caso, con una cadena

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 224

### IMPORTANCIA DE LA INMUNORREACTIVIDAD PARA CGRP EN EL DIAGNÓSTICO DEL CARCINOMA NEUROENDOCRINO DE CÉLULAS C.

Autor/a/s: Piso Neira Magali, Rico Rodríguez Trinidad Yolanda, De Castro Puente Miriam, Fernández Campos María Inés, Perez Costoya María del Mar, Vázquez Vigo Marta, Cameselle Teijeiro José

Centro de trabajo: C.H.U. de Santiago

Localidad: Santiago de Compostela

Correo electrónico del primer firmante: mapine@hotmail.com

### INTRODUCCIÓN:

En la glándula tiroideas, los tumores neuroendocrinos primarios abarcan a los carcinomas medulares (CMT) y raramente, otros tumores tal como paragangliomas. Los CMT derivan de células C (células parafoliculares) y se caracterizan por la ex-

presión de calcitonina y de marcadores neuroendocrinos. En algunos casos muy infrecuentes de CMT no hay expresión de calcitonina, por lo que el diagnóstico de estos carcinomas neuroendocrinos primarios de tiroides "sin calcitonina" es extremadamente difícil. El péptido del gen relacionado con la calcitonina (CGRP) se produce mediante empalme ("splicing") alternativo del RNA, específico de tejido, del gen CALCA, que codifica la calcitonina, calcitonina (procalcitonina) y CGRP.

Se describe el caso de un hombre de 76 años, con un tumor en el lóbulo tiroideo izquierdo, que se presentó con niveles normales de calcitonina en sangre y sin antecedentes familiares de interés.

Tras la realización de una hemitiroidectomía izquierda, nos encontramos histológicamente con un carcinoma de apariencia neuroendocrina similar a un paraganglioma, mostrando inequívocos signos de invasión vascular. Las células neoplásicas eran de citoplasma claro eosinófilo con núcleos hiper cromáticos y leve a moderada atipia.

#### OBJETIVOS:

Se pretende ilustrar la utilidad de marcadores inmunohistoquímicos menos conocidos, como el CGRP, para identificación de neoplasias muy infrecuentes.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Sobre el material fijado en formol e incluido en parafina se ha realizado:

El estudio histológico convencional con Hematoxilina-Eosina.

El análisis inmunohistoquímico mediante el sistema EnVision (Dako, Glostrup, Dinamarca), que utiliza un polímero de dextrano ligado a peroxidasa para evitar falsas positividades por la biotina endógena o la actividad biotina-like. Como marcadores ha sido utilizada una batería de anticuerpos: Cromogranina A, Sinaptofisina, CD56, TTF-1, PAX8, CkAE1AE3, Ck8/18, CGRP, Calcitonina, CEA, TTF2, Tiroperoxidasa, Tiroglobulina y Ki-67.

El análisis molecular con Histosondas Cenbimo (España) para mRNA de Calcitonina y Tiroglobulina.

Como tejido de control se utilizó el tejido tiroideo no tumoral y un carcinoma medular clásico positivo para calcitonina.

#### RESULTADOS:

El estudio inmunohistoquímico presentó positividad para marcadores neuroendocrinos (Cromogranina A, Sinaptofisina, y CD56), así como para TTF-1, PAX8, CkAE1AE3, Ck8/18 y CGRP. Hay también negatividad para Calcitonina, CEA, TTF2 y Tiroglobulina. El índice para Ki-67 fue inferior al 2%.

El análisis mediante hibridación in situ mostró que las células tumorales carecían de expresión de mRNA para calcitonina y tiroglobulina.

#### CONCLUSIÓN:

El CGRP mostró positividad en el citoplasma de las células tumorales, negativas para calcitonina, evidenciando su origen a partir de células C. Estos hallazgos confirmaron un carcinoma primario neuroendocrino de células C de tiroides (carcinoma medular) sin expresión de calcitonina.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 226**

### TUMOR SÓLIDO PSEUDOPAPILAR DIAGNOSTICADO POR PAAF GUIADA POR ECOENDOSCOPIA

*Autor/a/s: De Castro Puente Miriam, Fernández Campos María Inés, Perez Costoya María del Mar, Piso Neira Magali, Rico Rodriguez Trinidad Yolanda, Vázquez Vigo Marta, Abdulkader Nallib Ihab*

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

*Localidad: Santiago de Compostela*

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

#### INTRODUCCIÓN:

La punción aspiración con aguja fina guiada por ecoendoscopia (USE-PAAF) se ha convertido en una herramienta fundamental en el diagnóstico de las patologías pancreáticas y nos permite el diagnóstico de subtipos poco frecuentes.

El tumor sólido pseudopapilar de páncreas es una neoplasia muy poco frecuente y representa el 1-2% de los tumores de páncreas. Clínicamente es benigno o tumor maligno de bajo grado y es más frecuente en mujeres. Presenta un comportamien-

to poco definido desde el punto de vista oncológico y molecular, lo que dificulta su diagnóstico.

Se describe el caso de una mujer de 35 años que presenta una lesión nodular a nivel de cola de páncreas a la que se le realiza una USE- PAAF.

#### OBJETIVOS:

Como administrar el tejido obtenido mediante USE-PAAF para proporcionar un diagnóstico más preciso de subtipos tumorales poco frecuentes.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se recibe material procedente de una USE-PAAF pancreática :

1. Extensiones citológicas para tinción con diff-quick (Merck, Darmstadt, Alemania) procedentes de la evaluación "in situ" por el patólogo.

2. Muestra en ThinPrep Cytolyt Solution (TPPT, Hologic, Malborough, Massachusetts) que se procesa de la siguiente forma:

- Centrifugar en eurtubos en Kubota (Pacisa+Girart) a 1800 rpm durante 10 minutos.

- Decantar

- Recoger 2 gotas de sedimento y añadirlos a un vial de ThinPrep Preservcyt (TPPT, Hologic,

- Malborough,Massachussets) Dejar fijar 15 minutos y hacer un portaobjetos para tinción con Papanicolaou (Merck,Darmstadt ,Alemania) en ThinPrep 2000.

- El resto del material se vuelve a centrifugar con OH 96° a 1800 rpm durante 10 minutos

- Decantar

- Recoger el sedimento para mezclarlo en una solución de agar al 2,5% (Difco, BD,New Jersey, EEUU) en PBS y posterior realización de bloque celular

- Se incluye el bloque en un procesador estándar ( Leica ASP 6025)

Tras la confección del bloque celular se realizan cortes teñidos con hematoxilina-eosina para el estudio histológico convencional y también cortes para el análisis inmunohistoquímico mediante sistema EnVision (Dako,Glostrup,Dinamarca), que utiliza un polímero de dextrano ligado a peroxidasa para evitar falsas positividades por la biotina endógena o la actividad biotina-like. Los anticuerpos realizados fueron CD56, cromogranina, S100, vimentina, CK(AE1-AE3) y CD10.

#### RESULTADOS:

Tras el estudio histológico e inmunohistoquímico con positividad para vimentina, CK(AE1-AE3) y CD10, el diagnóstico es concordante con tumor sólido pseudopapilar en cola de páncreas.

#### CONCLUSIÓN:

La USE-PAAF es una excelente herramienta para obtener material que procesado de forma adecuada , nos va a proporcionar un diagnóstico preciso y nos permite realizar estudios inmunohistoquímicos y/o moleculares que nos permiten obtener datos de predicción y pronóstico que conduzcan a una mejora en los resultados del paciente.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 227**

### RECIDIVA DEL CARCINOMA BASOCELULAR APLICANDO CIRUGÍA DE MOHS

*Autor/a/s: MATILLA MATILLA FELIX MIGUEL; RODRÍGUEZ CASADO LOURDES; CASTAÑÓN FERNÁNDEZ BEATRIZ; SANTÍN PIEDRAFITA ENGRACIA ;RODIL ALVAREZ Mª CRUZ; GONZÁLEZ MARTÍNEZ RAQUEL; GONZÁLEZ MORÁN ASUNCIÓN*

*Centro de trabajo: HOSPITAL ASISTENCIAL UNIVERSITARIO DE LEÓN*

*Localidad: LEÓN*

*Correo electrónico del primer firmante: felixmatilla68@hotmail.com*

#### INTRODUCCIÓN:

El carcinoma basocelular es la forma más frecuente de cáncer de piel que se localiza principalmente en cara, nariz y frente. Afecta sobre todo a personas de edad avanzada, con cierta predisposición genética y que han tenido una exposición solar no controlada y acumulativa.

La cirugía de MOHS fue instituida por el Dr. Frederick Mohs en 1938, siendo la técnica quirúrgica de mayor eficacia para tratar ciertos tipos comunes de cáncer de piel. Se utiliza para eliminar completamente el área afectada respetando la piel sana que rodea la tumoración.

La tasa de curación para el carcinoma basocelular es de un 97-99%.

#### OBJETIVOS:

Revisar el porcentaje de recidivas tras la cirugía de MOHS en pacientes con carcinoma basocelular.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

En el Hospital Universitario de León se ha introducido la técnica de MOHS hace 12 años. En los 10 últimos años se realizaron 476 cirugías de MOHS, de los cuales 318 son pacientes con carcinoma basocelular.

El procedimiento se realiza con un equipo entrenado de dermatólogos, anatomopatólogos y técnicos de anatomía patológica. La extirpación del tumor la realiza el dermatólogo en el quirófano. A continuación en la antesala del quirófano el patólogo realiza las secciones necesarias para valorar correctamente todos los márgenes, marcando los bordes con diversos colores y plasmándolo sobre una fotografía del área donde está localizado el tumor. El técnico orienta estas secciones sobre las platinas del criostato para realizar cortes entre 5-7 $\mu$  y a una temperatura entre -16° C a -27° C que se tiñen con Hematoxilina – Eosina. El patólogo controla al microscopio la profundidad y borde del tumor informando las distintas biopsias intraoperatorias y emitiendo el informe definitivo verbalmente. Una vez finalizada la técnica se coloca cada sección congelada en un cassette para procesarlo y posterior informe escrito.

#### RESULTADOS:

Localización más frecuente en nariz y pliegue nasolabial.

Edad más frecuente entre 70 y 85 años

Recidiva un 3,1% del total.

Tipo más recidivante: carcinoma basocelular esclerodermiforme.

Variantes más agresivas: metatípica y esclerosante.

#### CONCLUSIONES:

El diagnóstico se realiza en el momento de la intervención quirúrgica evitando segundas intervenciones. Además se aplica anestesia local, lo que supone un bajo riesgo para el paciente y un menor coste de la técnica.

Se requiere personal técnico entrenado para realizar el procedimiento adecuado que permita una óptima interpretación. La casuística de nuestro hospital muestra una tasa de curación de un 96,9%.

con diferentes estructuras, por lo que es de gran importancia una correcta fijación de todas ellas.

Realizar con calidad, un corte de grasa puede resultar complicado. Uno de los motivos puede ser debido a una mala fijación.

#### OBJETIVOS:

El objetivo de este estudio es evaluar los efectos de los agentes físico-químico y valorar cuál es el mejor método de fijación para la grasa con el fin de obtener un buen corte y así, conseguir una mejor interpretación diagnóstica.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Hemos estudiado 14 biopsias con tejidos representativos de grasa subcutánea, grasa visceral y grasa de mamas. De cada tejido hemos cogido cuatro muestras, para el estudio en:

- Muestra 1: Formol puro

- Muestra 2: Formol 10% tamponado mas cloruro cálcico al 1%

- Muestra 3: Formol 10% tamponado

- Muestra 4: Congelación -27°

Hemos respetado la proporción 1:20 a emplear para fijar la muestra.

Se han fijado muestras durante 24 horas y durante 48 horas.

#### RESULTADOS:

Se percibe una ligera mejoría en la conservación del tejido, en las muestras correspondientes al número dos.

Los cortes que han estado 48 horas en el fijador muestran claramente una mayor dureza, facilitando la obtención del corte.

Las muestras correspondientes al número cuatro, permiten una obtención del corte más rápidamente que en los casos anteriores. Siendo los cortes de mejor calidad en macropletina de congelación que en macrobloque de parafina, destacando las piezas con grasa subcutánea.

#### CONCLUSIONES:

El tratamiento de formol 10% tamponado más cloruro cálcico al 1% y un tiempo de fijación de 48 horas muestra unos resultados muy efectivos en cuanto obtención del corte y calidad de tinción en piezas con abundante tejido adiposo.

La congelación puede ser una técnica alternativa importante para el diagnóstico en tejido celular subcutáneo (Cirugía de Mohs).

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 239**

### **INMUNOFLUORESCENCIA DIRECTA EN BIOPSIAS DE PIEL Y BIOPSIAS RENALES**

*Autor/a/s: Malo Niévedes, Verónica y Gurrea Vidal, Nuria*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario Miguel Servet*

*Localidad: Zaragoza*

*Correo electrónico del primer firmante: venus\_666\_6\_00@hotmail.com*

#### INTRODUCCIÓN:

La técnica de Inmunofluorescencia Directa utiliza anticuerpos marcados con fluorocromos que van dirigidos contra antígenos específicos. En el servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Miguel Servet (HUMS) de Zaragoza realizamos Inmunofluorescencia Directa en pieles procedentes del servicio de dermatología y biopsias renales. En pieles se determinan IgA, IgG, IgM y C3 para el diagnóstico de enfermedades autoinmunes o reumatológicas con afectación cutánea y enfermedades ampollasas. En biopsias renales se determinan las mismas Inmunoglobulinas más el fibrinógeno para el diagnóstico de enfermedades renales inflamatorias (glomerulonefritis).

#### OBJETIVOS:

Descripción de la técnica, utilizada en el servicio de Anatomía Patológica del HUMS de Zaragoza. Explicar los posibles fallos que podemos encontrar al realizar la técnica. Valorar la utilidad de la técnica según los resultados obtenidos en nuestro laboratorio en los últimos 12 meses.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 234**

### **ESTUDIO COMPARATIVO: DIVERSAS TÉCNICAS DE FIJACIÓN PARA EL ESTUDIO HISTOLÓGICO DE LA GRASA**

*Autor/a/s: Rodríguez Casado, Lourdes; Turiel Vicente, Rosario; Santín Piedrafita, Engracia; Castro Val, Paz; Fernandez Hevia, Bárbara; Rodríguez Vidal, Eva; Baltasar Moreira, Maria Luz; Sanchez Burón, Ángeles; Matilla Matilla, Félix Miguel; González Herbón, Jose; González Martínez, Raquel; Rodil Álvarez, Mª Cruz; Castañón Fernández, Beatriz; Gutiérrez Martínez, Aránzazu; De Celis García, Leticia; Alonso Rejero, Beatriz; González Morán, Asunción; De la Hera Magallanes, Ana*

*Centro de trabajo: COMPLEJO ASISTENCIAL UNIVERSITARIO DE LEÓN*

*Localidad: LEON*

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

#### INTRODUCCIÓN:

El tejido adiposo se encuentra bajo la piel (grasa subcutánea), alrededor de los órganos internos (grasa visceral), en la médula ósea y en las mamas.

Este tejido adiposo está formado por células grasas organizadas en grupos denominados lobulillos, los cuales están separados entre sí y sostenidos por tejido conectivo laxo, vasos sanguíneos y nervios.

En cortes de H y E se observan pequeños agujeros. Pero en cortes por congelación la grasa se conserva y puede teñirse.

El corte histológico de una pieza puede conllevar cierta dificultad al encontrarse

## MATERIAL Y MÉTODOS MUESTRAS:

Tejidos en fresco de biopsias de piel y renales, sobre los que realizamos cortes en congelación a 5 micras.

Material de laboratorio y Método: Portas con su tejido correspondiente, acetona, baño PBS, reactivos proporcionados por Roche, cubres, cámara húmeda, medio de montaje. El método de Inmunofluorescencia Directa corresponde a los protocolos proporcionados por la empresa suministradora Roche Diagnostic.

## RESULTADOS:

Al visualizar las pieles con técnicas de Inmunofluorescencia Directa en el microscopio de inmunofluorescencia, observamos los diferentes patrones de Inmunofluorescencia (lineal, granular, pericelular, etc.) y su localización intraepidérmica, basal o perivascular. Y al examinar las renales podemos ver también la morfología de los depósitos, y su localización, mesangial o perivascular. Anualmente, en nuestro servicio recibimos entre 2700 y 3200 biopsias de piel procedentes del Servicio de Dermatología, de las cuales entre un 2% y un 4% se preparan para realizar la técnica. Con respecto a las renales anualmente recibimos entre 140 - 153.

## CONCLUSIONES:

En patología cutánea la Inmunofluorescencia Directa ha resultado necesaria en el diagnóstico del 95% de las enfermedades ampollas (intraepidérmicas o subepidérmicas), siendo de una utilidad inferior al 50% en el diagnóstico de lupus eritematoso y otras enfermedades por depósito. En patología glomerular el uso de la técnica ha resultado todavía más definitivo, ya que no se ha diagnosticado ninguna glomerulonefritis sin realizar técnicas de Inmunofluorescencia Directa

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 257**

## IMPORTANCIA DE LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA EN CILINDROS RENALES EN FRESCO

*Autor/a/s: ELENA M<sup>a</sup> MORENO SUÁREZ, AURORA BARRANCO HERRERA, FÁTIMA EL ABED LUQUE*

*Centro de trabajo: UGC PROVINCIAL INTERCENTROS DE ANATOMÍA PATOLÓGICA DE GRANADA*

*Localidad: GRANADA*

*Correo electrónico del primer firmante: helenawp19@hotmail.com*

## RESUMEN:

En nuestra unidad se reciben cilindros renales en fresco que requieren de un procesamiento inmediato permitiéndonos no sólo diagnosticar patología tumoral sino también patología glomerular (glomerulonefritis). Al procesar dichos cilindros vamos a obtener material para congelación (destinado a técnicas de inmunofluorescencia), para inclusión en parafina (para el diagnóstico con microscopía óptica) y para Microscopía Electrónica, siempre que sea posible.

Vamos a tratar 2 casos de 2 pacientes varones a los que se realiza punción renal para la obtención de cilindros.

CASO 1: Varón de 36 años. Antecedentes de pérdida de audición de oído izquierdo en infancia. Miopia. Desprendimiento vítreo posterior. Proteinuria 0'3g/24h, aclaramiento de creatinina 129ml/mto.

CASO 2: Varón 14 años. Antecedentes de hematuria familiar.

## OBJETIVOS:

Poner de manifiesto la importancia de la Microscopía Electrónica en el diagnóstico de los 2 casos anteriores, en los que el diagnóstico con microscopía óptica no fue concluyente.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Los cilindros renales se reciben envueltos en una gasa humedecida con suero fisiológico para evitar su desecación (generalmente se requieren 2 cilindros independientes). Tras anotarse sus medidas son observados con lupa estereoscópica seleccionándose un fragmento con glomérulos que será incluido en un criomolde con OCT y congelado en isopentano a -84°C, posteriormente el bloque así obtenido se corta en el criostato a -24°C aprox. Para evitar su descongelación. Otro pequeño fragmento del cilindro (es imprescindible que contenga glomérulos) será destinado a Microscopía Electrónica. El resto del material se incluye en un cassette para la confección de un bloque de parafina y su procesamiento habitual.

El fragmento destinado a Microscopía Electrónica será rápidamente fijado en con glutaraldehído al 2'5% en un criotubo durante 24 horas, transcurridas las cuales el fijador será sustituido por tampón cacodilato y así será conservado hasta la recogida por parte del personal encargado. Como norma, en nuestra unidad siempre que es posible se toma material para Microscopía Electrónica, aunque sólo se realizarán las técnicas correspondientes en aquellos casos que solicite el patólogo.

## RESULTADOS:

En el caso 1 al Microscopio óptico llama la atención la presencia de podocitos de citoplasma multivesicular grande que tienden a colapsar segmentos glomerulares. Se observa ligero aumento de la sustancia mesangial en algunos de ellos. En el intersticio se advierte un pequeño foco de infiltrado inflamatorio mononuclear de intensidad leve. Algunas de las células de los túbulos muestran un citoplasma de aspecto claro y vesiculoso.

La inmunofluorescencia mostró positividad ocasional para Ig, positividad difusa y segmentaria glomerular para c4d, positividad focal en pared de vasos para c'3. Resto negativo.

Sospecha de Enfermedad de Fabry, es necesaria la Microscopía Electrónica para el diagnóstico definitivo.

En el estudio ultraestructural se observan depósitos lipídicos electrodensos laminales y que se localizan en el interior de podocitos y células mesangiales principalmente.

En el caso 2 la Microscopía óptica no se observan lesiones relevantes. La tinción con PAS sólo pone de manifiesto la presencia de ocasionales túbulos atróficos que muestran engrosamiento de la membrana basal tisular.

Con Microscopía Electrónica se realiza estudio morfométrico ultraestructural, llevando a cabo 22 determinaciones del grosor de las membranas basales de los capilares glomerulares obteniéndose una media de 160nm y una desviación típica de 71'08 nm.

## CONCLUSIONES:

En el caso 1 la Microscopía Electrónica permite realizar el diagnóstico definitivo de Enfermedad de Fabry, enfermedad de almacenamiento lisosómico hereditaria ligada al cromosoma X derivada de mutaciones en el gen que codifica la enzima  $\alpha$ -galactosidasa. Es característica de la enfermedad la presencia de podocitos con lípidos en patrón de cebrá visibles sólo con Microscopio Electrónico.

En el caso 2 tomando como referencia los valores normales del grosor de las membranas basales de los capilares glomerulares, que por encima de los 11 años son de 370 $\pm$ 50nm para varones y de 320 $\pm$ 50 nm en mujeres, permite comparar el valor obtenido en nuestro caso de 160'10 nm siendo el estudio morfométrico concordante con Enfermedad de Membrana Basal Delgada; Enfermedad hereditaria caracterizada por hematuria (también conocida como hematuria familiar benigna) y adelgazamiento de la membrana basal de los capilares glomerulares.

Como se ha puesto de manifiesto en los casos anteriormente descritos la Microscopía electrónica fue imprescindible para el diagnóstico de estas 2 enfermedades hereditarias en los que la Microscopía Óptica no permitió obtener resultados concluyentes.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 274**

## ESTUDIO DE RECHAZO DE MUESTRAS EN ANATOMÍA PATOLÓGICA DEL AREA DE GESTION SANITARIA NORTE DE HUELVA EN EL AÑO 2013.

*Autor/a/s: Medina Jimenez, M<sup>a</sup> Jose y Gonzalez Fernandez, Inmaculada*

*Centro de trabajo: A. de Gestion Sanitaria Norte de Huelva*

*Localidad: Mlnas de Riotinto*

*Correo electrónico del primer firmante: mj\_medina10@hotmail.com*

## RESUMEN:

Introducción: El laboratorio de Anatomía Patológica ha de tener unas normas donde se indiquen con claridad las instrucciones para el envío de las muestras. Es de vital importancia que todas estén correctamente identificadas pues en el caso contrario estas son rechazadas por lo que su procesamiento sufre una demora y con ello su diagnóstico.

Se decide realizar un formulario que lleve un control sobre el tiempo de demora y la rectificación de las muestras que siendo rechazadas vuelven al laboratorio.

## **OBJETIVOS:**

El objetivo de este trabajo es demostrar que gracias a este formulario de rechazo se consigue un sistema de recepción de muestras que evita errores y controla la rectificación de los mismos mejorando con ello el tiempo de respuesta de nuestro laboratorio.

## **MATERIAL Y MÉTODOS:**

Se trata de un estudio descriptivo, de carácter retrospectivo desde el 1 de enero de 2013 al 31 de diciembre de 2013. Durante este periodo hemos recibido un total de 6943 muestras, 3122 biopsias (44,96%) y 3821 citologías ginecológicas (55,03%), de las cuales 1970 de Atención Primaria y 1851 hospitalarias. Las muestras recibidas, son objeto de comprobación que la petición que acompaña a la muestra tiene incluido todos los datos de identificación según los protocolos normalizados de trabajo habituales en nuestro Laboratorio, para la recepción de muestras.

Se realiza un formulario donde se recogen los diferentes ítem con los criterios de rechazo: información incompleta o incorrecta en la petición de diagnóstico (no consta servicio peticionario, faltan datos del paciente...), errores en la muestra (portaobjeto roto, muestra sin fijar...), en muestras de quirófano (no estar registrado en su libro de control, faltan datos en el libro...). Por parte del personal técnico del servicio de Anatomía Patológica se completa el formulario que es rellenado con los datos del paciente a rechazar, descripción del error y firmado por el técnico responsable de la recepción de la muestra junto con la fecha en que es rechazada siendo devuelto para su rectificación.

Además estos datos son incluidos en una tabla donde se recogen: fecha, datos del paciente, servicio peticionario, causa de la devolución, técnico que lo recibe y fecha en la que la muestra vuelve al laboratorio debidamente rectificadas.

Resultados: Durante el tiempo que dura nuestro estudio, enero-diciembre año 2013, hemos recibido un total de 6943 muestras, de las cuales 113 (1,63%) no tenían alguno de los datos de identificación correctos por lo que fueron rechazadas para la complementación de los mismos.

Los principales datos que faltaban en las muestras rechazadas han sido que no constaba la firma del facultativo con 24 muestras (21,23%), seguida de 14 (12,39%) donde los datos de la muestra no coinciden con la petición. También destacamos que 24 de ellas (21,23%) contenían más de un error como motivo de rechazo.

La mayoría de las muestras rechazadas provienen de hospitalización con 56 muestras rechazadas lo que representa el 49,56% mientras que en Atención Primaria han sido rechazadas 43 (38,05%). El servicio hospitalario con más muestras con falta de algún dato ha sido cirugía con 17 (15,04%) de las muestras, seguido de ginecología con 14 (12,39%).

El tiempo de demora en rectificación de los datos ha sido: 28 muestras el mismo día (24,78%), un día 38 (33,63%), dos días 7 (6,19%), tres días 10 (8,85%), cuatro días 3 (2,65%), 7 días 7 (6,19%) y más de ocho días 7 (6,19%).

## **CONCLUSIONES:**

De los datos obtenidos podemos concluir que la implantación de este formulario ha facilitado la corrección de errores más frecuentes y su control, tanto de los servicios implicados como del tiempo que tardan en corregirlos.

Hemos observado que ha ido disminuyendo el número de errores ya que al llegar la muestra rechazada el formulario facilitaba la corrección de los mismos.

# BIOQUÍMICA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 002

## $\beta_2$ -MICROGLOBULINA EN SUERO: TRES METODOS EN PARALELO

Autor/a/s: Rodríguez Murciego, Manuela; Janeiro Varela, Patricia; Álvarez Álvarez, María Isabel; Alonso Meira, Natalia, Villar Losada, Casimira, López Álvarez, María Ignacia

Centro de trabajo: COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO DE VIGO

Localidad: VIGO

Correo electrónico del primer firmante: manuela.rodriguez.murciego@sergas.es

### INTRODUCCIÓN:

LA  $\beta_2$ -microglobulina ( $\beta_2$ -M) es un polipéptido de bajo peso molecular (18.000 Da) que forma parte de la cadena ligera del complejo de mayor histocompatibilidad (HLA) de clase I de la mayor parte de células nucleadas. Su función no está del todo clara aunque se le atribuye un papel importante en la función inmune.

Su utilidad clínica principal es un marcador tumoral en síndromes linfoproliferativos aunque la cuantificación de sus niveles séricos puede utilizarse en la valoración de distintas entidades clínicas. Es habitual su uso como indicador de disfunción renal o para evaluar la eficiencia del tratamiento antiviral en pacientes infectados por VIH.

### OBJETIVO:

Evaluar la transferibilidad de resultados entre tres metodologías de determinación de  $\beta_2$ -M distintos y estudiar la imprecisión de los dos métodos a sustituir el actualmente utilizado.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Método 1: MEIA (Asym, Abbott). Actualmente en el laboratorio.

Método 2: Nefelometría (IMMAGE, Beckman Coulter)

Método 3: Turbidimetría (AU 5800, Olympus, IZASA)

El estudio de correlación se realizó con muestras de 79 pacientes analizados por los tres métodos de manera simultánea. Las muestras fueron alicuotadas y congeladas a  $-20^\circ\text{C}$  hasta su procesamiento. Se calculó el cociente de correlación ( $r$ ), la ecuación de la recta mediante el método de regresión de Passing Bablock y el análisis de la media de las diferencias entre métodos (Bland-Altman) con la ayuda del programa Method Validator.

El estudio de imprecisión se valoró con un pool de sueros de pacientes y otro de material de control comercial: ITA 3 (lote 0027 C)

Para el estudio intraserial se procesaron 20 alícuotas de manera consecutiva en la misma serie de cada uno de los niveles, mientras que para la imprecisión interserial se procesó una alícuota por pool cada día a lo largo de 20 días.

### RESULTADOS:

ESTUDIO DE COMPARACIÓN:

Método 2=;  $r=0.982$ ; B-A: 0.376[0.284-0.46]

Método 3= $r=0.971$ ; B-A:0.876[0.759-0.993]

Método3=;  $r=0.989$ ; B-A: 0.503[0.421-0.584]

El rango de ensayo fue 0.9-14.6  $\mu\text{g}/\text{ml}$

ESTUDIO DE IMPRECISIÓN

INTRASERIAL		MEDIA ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	SD	CV (%)
AU 5800	Pool suero	2.89	0.03	1.05
	Pool ITA 3	6.5	0.05	0.83
IMMAGE	Pool suero	2.6	0.06	2.44
	Pool ITA 3	6.09	0.09	1.5

INTERSERIAL		MEDIA ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	SD	CV (%)
AU 5800	Pool suero	2.92	0.11	3.85
	Pool ITA 3	6.69	0.17	2.66
IMMAGE	Pool suero	2.61	0.13	4.93
	Pool ITA 3	6.15	0.15	2.47

### CONCLUSIÓN:

La falta de estandarización en la calibración de la técnica hace imposible transferir los resultados entre los diferentes métodos estudiados. Esto implica la necesidad de medir la  $\beta_2$ -M por duplicado, con el actual y con el nuevo método a introducir, con la finalidad de reevaluar a todos los pacientes en seguimiento y de esta manera obtener una concentración basal con la nueva técnica.

La imprecisión tanto de IMMAGE como de AU 5800 es bastante buena aunque ligeramente mejor para este último sobre todo a niveles bajos próximo al punto de decisión clínica

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 005

## ERRORES PREANALITICOS EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS DEL SERVICIO DE BIOQUÍMICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DE HIERRO (MAJADAHONDA. MADRID)

Autor/a/s: Garrandés Asprón, Rosa; Herranz Maganto, María; Diaz-Oliver Rodríguez-Escalona, Cristina; Izquierdo Bazaga, Aarón; García Jiménez, Miriam; Cañizares Gonzalez, María.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Puerta de Hierro

Localidad: Majadahonda

Correo electrónico del primer firmante: rosaspron@ono.com

### INTRODUCCIÓN:

La fase preanalítica es una parte vital del proceso de análisis en un laboratorio clínico, ya que en ella es donde interviene un mayor número de profesionales de diferentes disciplinas. Esta fase es considerada la más crítica, debido a que en ella es donde se produce un mayor número de errores debidos principalmente al fallo humano.

Es muy importante establecer los errores, debido a que una muestra rechazada genera reprocesos porque se debe solicitar nuevamente, implicando una demora en el resultado.

### OBJETIVOS:

Determinar la frecuencia y tipo de errores preanalíticos en el laboratorio de urgencias del servicio de Bioquímica Clínica del Hospital Universitario Puerta de Hierro (Majadahonda. Madrid)

### MATERIALES Y MÉTODOS:

Para este estudio se registraron durante el mes de agosto y primera quincena de septiembre de 2013 en los turnos de mañana, tarde y noche del laboratorio de urgencias un total de 18.702 muestras para su procesamiento, de las cuales se rechazaron 1.851 por considerar que la muestra se encontraba en condiciones inadecuadas (mal identificada, contaminada, volumen insuficiente) o extraviada.

### RESULTADOS:

Se identificaron 1.851 errores preanalíticos (frecuencia relativa 9.8%). La distribución de los errores fue: muestra hemolizada (96.8%), mal identificada (otro paciente, sin identificar, etiqueta defectuosa, como gas, como coagulación, como orina, como amonio, 1.2%), contaminación con anticoagulantes (EDTA) (1.2%), contaminación con infusiones intravenosas (suero glucosado- suero salino, 0.4%), otras causas (muestra insuficiente, 0.2%; muestra extraviada, 0.2%).

### CONCLUSIONES:

En los análisis de muestras de sangre existen muchas fuentes preanalíticas de error que generan rechazo de las muestras. La mayoría de éstos errores se presen-

tan por errores humanos, y son fácilmente evitables. En este estudio se encontró como error más común es la hemólisis (96.8%), error altamente asociado a una mala técnica en la extracción, manipulación y transporte de la muestra.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 007**

### **ESTUDIO COMPARATIVO EN LA DETERMINACIÓN DE MARCADORES TUMORALES**

*Autor/a/s: Prieto Sainz, María Belén; Rebollo Fuentes, María del Carmen; González Fernández, Ana María; Fernández González, Patricia*

*Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario de Valladolid*

*Localidad: Valladolid*

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

#### **INTRODUCCIÓN:**

El Antígeno Carcinoembrionario o CEA es una glucoproteína oncofetal, considerada marcador tumoral de amplio espectro. Otras glucoproteínas consideradas son CA 15.3, aplicada en la práctica a la detección precoz de recaída en el cáncer de mama metastático y en la evaluación de la respuesta al tratamiento y CA 125 empleada como marcador tumoral en pacientes con tumores ováricos no mucinosos de origen epitelial. CA 19.9 es una mucina empleada como marcador tumoral en pacientes con carcinoma pancreático y de la vía biliar.

#### **OBJETIVOS:**

Con el estudio de los marcadores tumorales presentados se pretende evaluar la correlación existente entre ellos, con el uso del autoanalizador Architec (Abbott) y Cobas-8000 (Roche Diagnostics).

#### **MATERIAL Y MÉTODOS:**

Se han determinado los niveles de CEA, CA 15.3, CA 19.9 y CA 125 en una serie de muestras, procedentes de analíticas rutinarias de diferentes servicios del Hospital Clínico Universitario y procesadas con técnicas de electroquimioluminiscencia. Los resultados se ajustaron con el Coeficiente de Correlación de Pearson y el Coeficiente de Correlación Intraclase; y los cálculos analizados con el programa estadístico SPSS versión 18.0.

#### **RESULTADOS:**

Se realizó un estudio de Passing-Bablok para los que se obtuvieron distintos resultados, siendo algunos de ellos los siguientes:

CEA – Coeficiente de correlación de Pearson: 0.9926 (p-valor < 0.001)

Coeficiente de correlación intraclase: 0.973 (p-valor < 0.001)

CA 15.3 – Coeficiente de correlación de Pearson: 0.8679 (p-valor < 0.001)

Coeficiente de correlación intraclase: 0.929 (p-valor < 0.001)

CA 19.9 – Coeficiente de correlación de Pearson: 0.7183 (p-valor < 0.001)

Coeficiente de correlación intraclase: 0.742 (p-valor < 0.001)

CA 125 – Coeficiente de correlación de Pearson: 0.9974 (p-valor < 0.001)

Coeficiente de correlación intraclase: 0.993 (p-valor < 0.001)

#### **CONCLUSIONES:**

La determinación bioquímica del CEA, CA 15.3 y CA 125 no presenta diferencias significativas entre ambos analizadores: sus coeficientes de correlación intraclase, 0.973, 0.929 y 0.993 respectivamente, indican un grado de concordancia excelente para CEA y CA 125; y bueno para CA 15.3. Por tanto, son sistemas útiles para cuantificar estos marcadores tumorales en la práctica diaria. En cambio, los resultados para CA 19.9 indican una correlación irregular entre ambas técnicas (coeficiente de correlación intraclase de 0.742), especialmente para valores elevados donde se observa una mayor dispersión de resultados.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 008**

### **PROTEINURIA Y SU RELACION CON LOS DIFERENTES TIPOS DE CILINDROS.**

*Autor/a/s: Luján García, María Isabel, Domínguez Alonso, Laura, Olivan Esteban,*

*Raquel, Palma Fernández, Rocío, Gómez - Serranillos Reus, Manuel.*

*Centro de trabajo: Hospital Virgen de la Salud*

*Localidad: Toledo*

*Correo electrónico del primer firmante: maribellujan2004arrobayahoo.es*

#### **INTRODUCCIÓN:**

Estudiar la relación entre la presencia de proteinuria medida mediante tira reactiva y la visualización de cilindros mediante microscopía automatizada.

#### **OBJETIVOS:**

- Demostrar que existe una relación entre la existencia de proteínas en orina y la formación de cilindros.

#### **MATERIAL Y MÉTODOS:**

- COMBUR –TEST, tiras reactivas de 10 parámetros para la determinación semicuantitativa.

- COBAS u-411 (ROCHE), analizador de orina progresiva semi-automático que está diseñado para la lectura de las tiras reactivas COMBUR-TEST.

- IRIS (Bekman Coulter), sistema para el análisis del sedimento mediante microscopía automatizada y análisis de imagen.

#### **RESULTADOS:**

Durante el primer trimestre del año 2013 se analizaron en el Laboratorio de Urgencias un total de 5977 muestras de orina, de las cuales el 49 % (2940 muestras) presentaron proteínas positivas.

De este 49% de muestras con proteinuria, un 11% (315 muestras) presentó cilindros en la lectura del sedimento mediante microscopía automatizada.

<b>DISTRIBUCION DE CILINDROS</b>	<b>FRECUENCIA</b>
Cilindros Hialinos	82 %
Cilindros Hialinos-Granulosos	10 %
Cilindros Granulosos	7 %
Resto de Cilindros	1 %

#### **CONCLUSIÓN:**

Analizando los datos obtenidos, se concluye que existe una clara relación entre la presencia de proteínas en orina y la formación de cilindros.

Se observa una mayor frecuencia de cilindros hialinos (82%) frente al resto de tipos en su distribución.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 018**

### **ESTUDIO DE LA ELIMINACIÓN DE FENOLES EN PACIENTES CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA (IRC) SOMETIDOS A HEMODIALISIS**

*Autor/a/s: Díaz González María del Carmen; Montes Jiménez Inés; Ortega Madueño Isabel; Arroyo Fernández Manuel*

*Centro de trabajo: Hospital Clínico San Carlos.*

*Localidad: Madrid*

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

#### **INTRODUCCIÓN:**

En la insuficiencia renal crónica (IRC) se produce la acumulación de múltiples toxinas urémicas. Entre las más estudiadas se encuentran los fenoles, de los que cabe destacar el fenol y el p-cresol que se encuentran en el organismo como productos del catabolismo proteico de las bacterias anaerobias intestinales. En condiciones normales, se excretan en la orina tras la formación del hemíster sulfúrico, pero en los pacientes con IRC, la eliminación debe realizarse mediante tratamientos de diálisis que están basados en la difusión de solutos a través de membranas semipermeables con las que se consigue simular la filtración renal.

#### **OBJETIVO:**

Estudio de la eliminación de fenol y p-cresol en pacientes con IRC sometidos a hemodiálisis.

## MATERIALES Y MÉTODO:

En el estudio se incluyeron 46 pacientes sometidos a hemodiálisis (29 hombres y 17 mujeres) con una edad media de 65 años.

Se recogieron 92 muestras de suero (antes y después de la diálisis), en las que se midieron los niveles de fenol y p-cresol mediante HPLC (High Pressure Liquid Chromatography) con un método desarrollado en nuestro laboratorio.

## RESULTADOS:

El cálculo de la depuración de ambos fenoles en el suero de estos pacientes se realizó mediante la ecuación:  $[(X \text{ prediálisis} - X \text{ postdiálisis}) / X \text{ prediálisis}] \times 100$ .

La comparación de medias se llevó a cabo mediante t de Student para las variables que cumplieron los criterios de normalidad según el test de Kolmogorov-Smirnov.

Se utilizó el test de la mediana para la comparación de las variables no paramétricas. La correlación se estudió mediante los coeficientes de Pearson y Spearman para las variables normales y no normales respectivamente.

Los valores de fenol no siguen una distribución normal. Las medianas obtenidas para el fenol en los sueros recogidos pre y post diálisis se recogen en la siguiente tabla:

FENOL	Pre-diálisis	Post-diálisis
Mediana (rango intercuartílico) mg/L	1.1 (0.64-2.4)	0.36 (0.2-0.68)
Coefficiente de correlación prediálisis-postdiálisis (Rho de Spearman)	0.855	

Los valores de p-cresol siguen una distribución normal. Las medias obtenidas para el p-cresol en los sueros recogidos pre y post diálisis se recogen en la siguiente tabla:

CRESOL	Pre-diálisis	Post-diálisis
Media $\pm$ DS mg/L	7.1 $\pm$ 2	4.1 $\pm$ 4
Coefficiente de correlación prediálisis-postdiálisis (Pearson)	0.926	

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.001$ ) entre los % de eliminación de fenol (67%) y los de p-cresol (42%).

Conclusión:

Existe una buena correlación entre los niveles pre y post diálisis de fenol (coeficiente de correlación = 0.855) y de p-cresol (coeficiente de correlación = 0.926), indicando que la hemodiálisis consigue depurar estas toxinas urémicas.

Sin embargo, cabe destacar que la eliminación de fenol (67%) es mucho más efectiva que la de p-cresol (42%).

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 020**

## INMUNOENSAYO PARA LA DETECCIÓN CUALITATIVA DE HEMOGLOBINA EN HECES

*Autor/a/s: MARIA DEL MAR RUIZ PEREZ*

*Localidad: MOTRIL (GRANADA)*

*Correo electrónico del primer firmante: mar.ruiz.tel@gmail.com*

## INTRODUCCIÓN:

La presencia de sangre en heces advierte en muchas ocasiones alguna lesión o trastorno en el tubo digestivo. La sangre puede provenir de cualquier parte del tubo digestivo.

Puede haber la suficiente sangre como para que las heces cambien de apariencia, siendo necesario saber el color exacto para encontrar el lugar del sangrado.

- Las heces negras sugieren que la sangre proviene de la parte superior del tracto gastrointestinal, tienen aspecto de alquitrán debido a la exposición de las mismas a los jugos gástricos del intestino (melena).

- Las heces rojas o de color marrón pueden indicar que la sangre proviene de la parte inferior del tubo digestivo (hematoquecia), pudiendo además provenir de un sangrado masivo o rápido del estómago.

Puede haber cantidades tan pequeñas de sangre que realmente no se puede apreciar y solo se puede detectar mediante un examen de sangre oculta en heces.

El dispositivo de prueba rápida FOB, prueba de venta comercial, es un inmunoensayo visual y rápido utilizado para la detección cualitativa de hemoglobina humana en muestras de heces humanas.

## OBJETIVOS:

Las anteriores pruebas de venta comercial utilizaban la prueba del guayaco que requerían restricciones alimentarias para minimizar los resultados falsos positivos y negativos. El dispositivo de prueba rápida FOB mejora la especificidad en la detección de trastornos del tracto gastrointestinal inferior. Se utiliza como ayuda para el diagnóstico de patologías del mismo incluyendo cáncer colorrectal y adenomas, sin restricciones alimentarias y de forma rápida y específica.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Este dispositivo es un test rápido listo para su uso en el que se interpreta visualmente el desarrollo del color en la tira reactiva.

La zona de la prueba de la membrana contiene anticuerpos anti-hemoglobina humana inmovilizados. La muestra reacciona con los conjugados coloreados de anticuerpo anti-hemoglobina y oro coloidal fijados en la almohadilla para muestra de la prueba. La mezcla migra a través de la membrana por capilaridad y reacciona con los reactivos sobre la membrana.

La presencia de una banda en la zona de control indica que el proceso se ha realizado correctamente.

La presencia o no de una banda en la zona de prueba indica un resultado positivo o negativo.

La lectura de los resultados debe realizarse a los 5 minutos de añadir la muestra

## RESULTADOS:

Una vez interpretados los resultados de la prueba se realizara la confirmación del diagnóstico con la evaluación de los resultados clínicos y de laboratorio.

La presencia de sangre en heces puede tener un origen ajeno al sangrado colorrectal. Existen factores que pueden producir falsos positivos:

Cumarínicos, utilizados para prevención de trombosis, accidentes cerebrovasculares y ataques cardíacos. Acido acetilsalicílico, componente de medicamentos para el dolor de cabeza y utilizado ocasionalmente como diluyente sanguíneo. Los pacientes que toman diluyentes sanguíneos pueden tener sangrados más intensos.

Los suministros alimenticios de hierro aumentan la eliminación de sangre.

Las hemorroides y el periodo menstrual pueden contaminar las heces con pequeñas cantidades de sangre.

Las muestras de orina pueden contener sangre en distintas enfermedades con lo que hay que evitar el contacto de estas con la muestras de heces.

.En resultados negativos no se excluye la presencia de sangre en heces debido a diferentes causas; que la sangre no se distribuya de forma uniforme por la muestra, los pólipos colorrectales en estadio temprano pueden no sangrar y algunos pólipos y el cáncer colorrectal pueden producir un sangrado intermitente o no sangrar, también en sangrados de la parte superior del tracto gastrointestinal debido a que la sangre se degrada por el paso a través del mismo.

## CONCLUSIÓN:

El cáncer colorrectal es uno de los principales tipos de cáncer diagnosticados y una de las principales causas de muerte por cáncer. Este dispositivo de prueba rápida aumenta las posibilidades de detectarlo en su estadio temprano, disminuyendo así la mortalidad.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 031**

## COMPARACIÓN ENTRE RESULTADOS DE PROLACTINA BASAL Y POOL DE PROLACTINA.

*Autor/a/s: Bosch Garrós, Concepción; Tura Farré, María; Vidal Canals, Constanza; Serrano Domènech, Carmen*

*Centro de trabajo: Catlab A.I.E.*

*Localidad: Viladecavalls*

*Correo electrónico del primer firmante: cbosch219@hotmail.com*

## INTRODUCCIÓN:

La prolactina es una hormona secretada por la glándula hipófisis, normalmente presente en pequeñas cantidades en hombres y mujeres no embarazadas. Su principal función es la de estimular la producción de leche materna tras el embarazo y durante toda la lactancia. Debido a que los niveles séricos de prolactina muestran variaciones circadianas y su secreción es pulsátil, se realiza habitualmente la prueba denominada Pool de Prolactina, que consiste en extraer al paciente 3 muestras consecutivas de sangre durante un periodo de tiempo de 20 o 30 minutos. En el laboratorio se prepara el pool de suero con partes iguales de cada una de las muestras de suero extraídas al paciente y se determina la prolactina.

## OBJETIVOS:

Comparar los resultados de prolactina obtenidos en el pool de sueros con los obtenidos en la muestra de suero basal, para verificar si existen diferencias que justifiquen realizar al paciente varias extracciones de sangre para obtener el pool de suero.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Estudio retrospectivo de los resultados obtenidos de prolactina basal y pool de prolactina de 262 individuos (12% hombres y 88% mujeres) que acudieron a nuestro laboratorio durante el periodo comprendido entre enero del 2011 y junio del 2013 y a los que se les había solicitado en la misma petición, prolactina basal y pool de prolactina.

Se calcula la sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) i valor predictivo negativo (VPN) para hombres y mujeres. Se considera como método de referencia el pool de prolactina. Se consideran positivos los resultados superiores al límite superior del valor de referencia.

Las determinaciones se realizaron con un método de electroquimioluminiscencia (ECLIA) en un analizador Elecsys 170 de Roche Diagnostics.

## RESULTADOS:

De los 29 hombres estudiados, 12 (41,38%) presentan resultados dentro de los valores de referencia tanto de prolactina basal como de pool de prolactina, 16 (55,17% ) presentan resultados de prolactina basal y pool de prolactina superiores al valor de referencia y 1 (3,45% ) presenta un resultado de prolactina basal superior al valor de referencia y normal en el pool.

De las 233 mujeres estudiadas, 206 presentan resultados coincidentes de prolactina y pool de prolactina, de los cuales 8 (3,43%) son inferiores a los valores de referencia, 91 (39,05%) dentro de los valores de referencia y 107 (45,93%) superiores a los valores de referencia; de los 27 casos que no coinciden, 1 (0,43% ) presenta prolactina basal dentro valores de referencia y el pool superior a los valores de referencia y 26 (11,16%) con prolactina superior a los valores de referencia y pool dentro de dichos valores. Los resultados de sensibilidad, especificidad y valor predictivo, se muestran en la tabla siguiente:

	Hombres	Mujeres
Sensibilidad	100.0%	99.1%
Especificidad	92.3%	73.3%
Valor predictivo positivo	94.1%	80.5%
Valor predictivo negativo	100%	99%

## CONCLUSIONES:

En el grupo de los hombres, si bien en el 96,55% de los casos, coinciden los resultados de prolactina basal y pool, consideramos que una muestra de 29 individuos no es representativa.

En el caso de las mujeres, en 27 de 233 (11.59%) no coinciden los resultados de prolactina basal y pool. La disminución del valor predictivo positivo de la prolactina basal respecto al pool de prolactina, justifica la utilidad del pool de prolactina.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 032**

**UTILIDAD DEL RECuento DE PARTÍCULAS PEQUEÑAS Y LEUCOCITOS EN ORINA OBTENIDAS POR EL ANALIZADOR IRIS IQ200 COMO MÉTODO PREDICTIVO DEL CULTIVO MICROBIOLÓGICO**

*Autor/a/s: Carrasco Zafra, Mónica; Egea Salvador, Carmen; García Méndez, Sonia; Cañero Torrecillas, Mª del Pilar*

*Centro de trabajo: Catlab*

*Localidad: Terrassa*

*Correo electrónico del primer firmante: ica\_carrasco@yahoo.es*

## INTRODUCCIÓN:

la infección del tracto urinario (ITU) es la más frecuente en la práctica clínica. Para el estudio se utiliza un método automatizado IRIS IQ 200 Sprint. Un analizador de microscopía basado en el análisis de imágenes del sedimento urinario, que las cuantifica y clasifica en distintas categorías. Debido a su tamaño, las partículas inferiores a 3 µm no pueden ser identificadas y el analizador las contabiliza como partículas pequeñas. Este recuento no puede transmitirse al sistema de información de laboratorio (SIL). Con mucha frecuencia se observa que en muestras con cultivo microbiológico positivo, no se detectan bacterias con el IQ 200 Sprint.

## OBJETIVOS:

Evaluar la concordancia existente entre el número de partículas pequeñas y/o leucocitos obtenidos con el analizador IRIS IQ200 Sprint respecto a los resultados obtenidos de los cultivos de microbiología.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realiza un estudio retrospectivo de las orinas remitidas a nuestro laboratorio en el periodo comprendido entre marzo y diciembre del 2013, a las que se les solicitaba el estudio de sedimento urinario y de cultivo microbiológico. Se seleccionaron aleatoriamente un total de 310 orinas. Las orinas son procesadas primero por microbiología, después por el analizador Urisys 2400 que realiza la tira bioquímica y finalmente por el analizador IRIS IQ 200 Sprint. Se consideraron positivos los resultados de los cultivos con recuento de crecimiento bacteriano superior a 100,000 UFC/mL. Sólo en los casos de obtención de muestra por punción suprapúbica, portadores de sonda vesical, síndrome miccional y varones se consideraron positivos recuentos inferiores según los protocolos establecidos en microbiología clínica. Las orinas con cultivos mixtos (>2 gémenes) se consideraron orinas contaminadas y se excluyeron del estudio.

Todos los elementos clasificados mediante IRIS IQ Sprint, fueron revisados y validados por personal técnico y facultativo cualificados.

Se realizó el cálculo estadístico mediante MS Acces® para obtener la sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN).

## RESULTADOS:

Del total de las muestras analizadas se encontraron un 51.61% de cultivos positivos (160/310). De éstos, un 68.1% (109/160) presentaron partículas positivas y un 66.9% (107/160) leucocitos positivos. En el caso de los cultivos negativos, se detectaron partículas positivas en un 22.7% (34/150) de los casos, y presencia de leucocitos positivos en un 26% (39/150). La sensibilidad, especificidad, VPP y VPN para el conjunto de muestras con presencia de partículas o leucocitos fueron del 87.4% (111/127), 56.8 (54/95), 73.0% y del 77.1%, respectivamente.

## CONCLUSIONES:

Si se consideran conjuntamente la presencia de partículas y leucocitos, la sensibilidad para la detección de ITU se incrementa notablemente (87.4%), si bien disminuye la especificidad (56.8%). Estos resultados sugieren que sería interesante incluir la concentración de partículas <3 µm en los algoritmos de cribado de orinas para cultivo, a pesar de que tendrían escaso valor diagnóstico.

La sensibilidad y especificidad obtenidas en este estudio son inferiores a los obtenidos en la bibliografía revisada, es por eso que creemos que éstos resultados deberían confirmarse en posteriores estudios con una muestra de mayor tamaño.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 034**

**UTILIDAD DEL ÍNDICE ICTÉRICO EN DIMENSION VISTA COMO CRITERIO DE DECISIÓN PARA LA MEDIDA DE BILIRRUBINA EN UN LABORATORIO DE URGENCIAS.**

*Autor/a/s: María Isabel García Sanchez, María Dolores Olivo Ros*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario Santa Lucía*

*Localidad: Cartagena*

*Correo electrónico del primer firmante: maribel-72@hotmail.es*

## INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS:

La medida de bilirrubina es una herramienta útil en el diagnóstico de la enfermedad hepatobiliar, trastornos hemolíticos y como parámetro incluido en ciertos scores de gravedad utilizados en pacientes críticos como el SOFA. Sin embargo, la introducción en nuestro laboratorio de la petición electrónica, sin limitación en la solicitud de pruebas, ha supuesto un incremento considerable en su solicitud en el laboratorio de urgencias. Estudios recientes (Salinas M et al. Diagnostic accuracy of icteric index to detect abnormal total bilirubin values. J Clin Pathol 2012;65:928-933) han demostrado la utilidad del "índice icterico" para la identificación de pacientes con valores anormales de bilirrubina. Sin embargo, dada la falta de estandarización para la medida de este parámetro, es necesario validar estos resultados iniciales cuando se usan analizadores distintos.

Nos hemos planteado valorar la eficacia de la medida en el analizador Dimension Vista del "índice icterico" (II) como herramienta para decidir cuando la medida de bilirrubina debe ser realizada.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Diseño: Análisis retrospectivo de las solicitudes en el Laboratorio de Urgencias de bilirrubina durante un período de dos meses. En todas las muestras, como parte del protocolo de identificación de interferencias preanalíticas, se valoró de forma semicuantitativa la ictericia de la muestra mediante el II.

Métodos: La bilirrubina se midió mediante un método de diazotación (modificación del método de Doumas) en el analizador Dimension Vista. El II es una expresión semicuantitativa, mediante una escala numérica de 1 a 8, de la concentración de bilirrubina en suero.

Análisis estadístico: se evaluó el rendimiento del II mediante el análisis de curvas ROC para distinguir entre valores normales y anormales de bilirrubina (>1,2 mg/dL) y se calculó la sensibilidad (S), especificidad (E), valores predictivos (VPN/VPP) y coeficientes de verosimilitud (LR+/LR-) para un II de 2. Se utilizó el programa estadístico EPIDAT 3.1

## RESULTADOS:

Se incluyeron en el estudio los resultados de bilirrubina de 847 pacientes (rango de concentración: 0,1-31,4 mg/dL), de los cuales 291 (34,4%) presentaron hiperbilirrubinemia. El análisis de los resultados clasificados como falsos negativos demostró que el rango de bilirrubina en estos fue de 1,3-2,0 mg/dL, con un porcentaje del 66% correspondiendo a elevaciones < 1,6 mg/dL. El AUC ROC para la detección de valores anormales fue 0,90 (IC95%: 0,87-0,93, p<0,0001). Para un II de 2 el rendimiento diagnóstico fue: S: 80,8% (76,1-85,5%), E: 98,9% (98,0-99,9%), VPP: 97,5% (IC95%: 95,3-99,7%), VPN: 90,8% (IC95%: 88,4-93,2%), LR +: 74,8 (IC95%: 33,7-166,2) y LR -: 0,19 (IC95%: 0,15-0,25).

## CONCLUSIONES:

Los LR obtenidos, indicadores independientes de la prevalencia del evento, proporcionan una fuerte evidencia de que el valor de bilirrubina está por debajo de 1,2 mg/dL cuando el II es inferior a 2. Nuestro estudio apoya el uso del II para la identificación de pacientes con valores patológicos de bilirrubina. La aplicación en la práctica clínica de esta medida, que requerirá del consenso previo con los clínicos peticionarios, contribuirá a reducir el número de determinaciones de este marcador con el consiguiente ahorro económico.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 039**

### COMPROBACION DE LA TRANSFERIBILIDAD DE RESULTADOS EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS

*Autor/a/s: MARIA TRINIDAD HITA SANCHEZ, ROSA MARIA ANDREU PEREZ, CONCEPCION RUBIO SAMOS, ALBA GUZMAN OLMEDO, MARTA LOPEZ MELCHOR, FERNANDO RODRIGUEZ ALEMAN.*

*Centro de trabajo: LABORATORIO URGENCIAS, HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES*

*Localidad: GRANADA*

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

## INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS:

La transferibilidad es la propiedad de poder ser asumidos como propios los datos obtenidos por un laboratorio diferente, en el mismo laboratorio por un método diferente, o una instrumentación diferente al que los ha producido. En el Laboratorio

de Urgencias se debe garantizar la calidad de los resultados y la transferibilidad de los mismos ya que suelen estar las técnicas por duplicado para garantizar la asistencia 24h.

El objetivo de este estudio es ver si los resultados en el Laboratorio de Urgencias realizados en dos instrumentos diferentes son transferibles de acuerdo con los criterios de transferibilidad del Comité de Garantía de la Calidad y Acreditación de Laboratorios de Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (SEQC) (Documento R) Quim Clin 1996; 15(6):442-444, para las determinaciones de un perfil básico.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

En nuestro Laboratorio de Urgencias disponemos de un doble sistema para determinaciones bioquímicas, los instrumentos son Clínicos Synchron UniCel DxC Bekman Coulter y utilizamos los controles bioquímicos suministrados por Bekman Coulter para comprobar las diferencias entre ambos, y aplicamos los criterios de la SEQC.

En un perfil básico se hacen las determinaciones de Glucosa, Urea, Creatinina, Sodio, Potasio y Cloro.

Utilizamos 3 controles de diferentes concentraciones, baja, media y alta, considerando un periodo de 3 meses, realizando cada control al menos una vez al día.

## RESULTADOS:

Al comparar las diferencias entre las medias encontramos lo siguientes resultados:

- Glucosa: es transferible a todos los niveles.
- Urea: es transferible a todos los niveles.
- Creatinina: es transferible a todos los niveles.
- Sodio: solo es transferible a niveles medios (138.1 mmol/L).
- Potasio: es transferible a todos los niveles.
- Cloro: es transferible a niveles medios y altos (100,8 y 122,4 mmol/L).

## CONCLUSIONES:

Existe transferibilidad en las determinaciones de Glucosa, Urea, Creatinina, y Potasio, y según el criterio de la SEQC no existiría transferibilidad en las determinaciones de Sodio a niveles bajos y altos y Cloro a niveles bajos, sin embargo las diferencias máximas existentes del 0,6% consideramos que no tienen ninguna trascendencia clínica, por lo que asumimos que los resultados son transferibles para estas magnitudes.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 041**

### CADENAS LIGERAS LIBRES EN SUERO (FREELITE®): COMPARACIÓN DE SU MEDIDA EN LOS ANALIZADORES IMAGE 800 Y BN PROSPEC

*Autor/a/s: Ares Vidal Olga, Lorenzo García Lourdes, Cárdenas Fernández María Cruz*

*Centro de trabajo: Hospital Clínico San Carlos*

*Localidad: Madrid*

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

## INTRODUCCIÓN:

La medida de las cadenas ligeras libres en suero se utiliza, junto con la electroforesis y la inmunofijación en suero y orina, en el diagnóstico, pronóstico y seguimiento de las gammopatías monoclonales.

Un inmunoensayo disponible para su medición, Freelite®, puede ser adaptado en diferentes plataformas comerciales. El inmunoensayo es nefelométrico o turbidimétrico dependiendo de la plataforma utilizada.

## OBJETIVO:

Comparar la medida de las cadenas ligeras libres en suero con el ensayo Freelite® en dos analizadores, que utilizan para este inmunoensayo como principio de medición la turbidimetría (Image 800) y la nefelometría (BN proSpec).

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Para el estudio comparativo se midieron las cadenas ligeras libres kappa y lambda en muestras de suero de 20 individuos sanos (rango de concentraciones de 7.2-25.9 mg/L) y en 112 muestras de suero de individuos con gammapatía monoclo-

nal (rango de concentraciones de 4.2-8430 mg/L) mediante inmunoturbidimetría en un Immage® 800 (Beckman Coulter) y mediante inmunonefelometría en un BN ProSpec® (Siemens). El reactivo utilizado en ambos analizadores fue Freelite® (Binding Site).

Los resultados de las muestras en los dos analizadores, se compararon mediante la regresión no paramétrica Passing & Bablok. También se calculó la concordancia (índice kappa) entre ambos, utilizando como valores discriminantes los valores de referencia proporcionados por la casa comercial: cadena ligera libre kappa 3.3-19.4 mg/L, cadena ligera libre lambda 5.7-26.3 mg/L, cociente kappa/lambda libre 0.26-1.65.

La imprecisión interensayo de ambos analizadores se obtuvo midiendo dos niveles de control para cada una de las cadenas ligeras libres (Binding Site) durante 40 días.

#### RESULTADOS:

Los resultados de comparación de las cadenas ligeras libres ( $y=BN$  proSpec,  $x=Immage$  800) fueron: Cadena ligera libre kappa,  $n=125$ ,  $r=0.97$ , pendiente=1.38 (intervalo de confianza 95% 1.28, 1.49), ordenada en el origen=-1.2 (intervalo de confianza 95% -2.81, 0.06); Cadena ligera libre lambda,  $n=132$ ,  $r=0.97$ , pendiente=1.12 (intervalo de confianza 95% 1.03, 1.21), ordenada en el origen=-2.79 (intervalo de confianza 95% -4.03, -1.50).

El índice kappa obtenido para la cadena ligera libre kappa fue de 0,763 (intervalo de confianza 95% 0.650, 0.875), para la cadena ligera libre lambda 0,907 (intervalo de confianza 95% 0.817, 0.997) y para el cociente kappa/lambda libre 0,676 (intervalo de confianza 95% 0.549, 0.803).

En 4 muestras de pacientes con gammapatía monoclonal se obtuvo una respuesta no lineal en la cadena ligera libre kappa en el ensayo inmunoturbidimétrico.

La imprecisión interensayo obtenida para la cadena ligera libre kappa fue inferior a 9.6% en el Immage 800 e inferior a 8.1% en el BN proSpec. Para la cadena ligera libre lambda fue inferior a 11.7% en el Immage 800 e inferior a 5.4% en el BN proSpec.

#### CONCLUSIONES:

Existe una buena correlación entre los resultados de ambos analizadores, si bien se han encontrado diferencias significativas. Las diferencias son más pronunciadas en la cadena ligera kappa. En la cadena ligera libre lambda los resultados son casi equivalentes.

Las diferencias en las mediciones influyen en el cociente kappa/lambda, donde se observa que la concordancia entre ambos métodos es menor que para las cadenas ligeras libres kappa y lambda, y afectan la interpretación de los resultados.

Los resultados de imprecisión son comparables para la cadena ligera libre kappa y mejores para la cadena ligera libre lambda en la inmunonefelometría

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 053**

#### INCIDENCIA DE GAMMAPATÍA MONOCLONAL DE SIGNIFICADO INCIERTO EN AGS OSUNA

*Autor/a/s: Montero Velasco Olga, Guerra Montaña Amparo, Cabezas Arroyo Victoria*

*Centro de trabajo: Hospital la Merced*

*Localidad: Osuna*

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

#### INTRODUCCIÓN:

La Gammapatía Monoclonal de significado incierto (GMSI) no produce síntomas y suele detectarse durante exámenes rutinarios en pacientes aparentemente normales. Es importante realizar un seguimiento de estos pacientes pues existe un riesgo de transformación a Mieloma Múltiple incluso 30 años después de su diagnóstico. Como no se puede predecir cuando se malignizará el proceso, estos pacientes deben ser seguidos durante un largo periodo de tiempo.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se ha realizado un estudio retrospectivo entre los años 2012 a 2013 para valorar la incidencia de diagnóstico de Gammapatía Monoclonal de significado incierto en la población del AGS de Osuna. El proteinograma se realiza mediante una técnica de electroforesis capilar en un autoanalizador Capillarys de Sebia. La inmunofijación se realiza en el analizador Hydrasys de Sebia.

#### RESULTADOS:

En el período 2012-2013 se han diagnosticado 177 Gammapatías Monoclonales de significado incierto, de las cuales 58 son Gammapatías Monoclonales IgG Kappa, 45 Gammapatías Monoclonales IgG Lambda, 18 Gammapatías Monoclonales IgA Kappa, 13 Gammapatías Monoclonales IgA Lambda, 15 Gammapatías Monoclonales IgM Kappa y 11 Gammapatías Monoclonales IgM Lambda, cadenas ligeras Lambda 7 y Biconales 10.

#### CONCLUSIONES:

Las Gammapatías Monoclonales de significado incierto más frecuentes en el AGS de Osuna son la Gammapatía Monoclonal IgG Kappa(58) y la Gammapatía Monoclonal IgG Lambda (45); las Gammapatías Monoclonales de significado incierto menos frecuentes son la Gammapatía Monoclonal IgM Lambda (11), la Gammapatía Monoclonal IgM Kappa(15) y la Gammapatía Monoclonal IgA Kappa (18), cadenas ligeras Lambda 7 y Biconales 10.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 058**

#### ESTUDIO COMPARATIVO DE CONCORDANCIA ANALÍTICA ENTRE EL SISTEMA DE POINT OF CARE - EPOC FRENTE AL ANALIZADOR DE REFERENCIA GP4000

*Autor/a/s: SANCHEZ MATEOS ,CARMEN BEATRIZ ,MORAN CRIADO MARIA JESUS,NUÑEZ GARCIA MARIA CARMEN, PEREZ GONZALEZ MARIA ISABEL, MORAN CRIADO ARACELI, HIRALDO PATIÑO JUAN ANTONIO MARQUÉS GARCÍA FERNANDO.*

*Centro de trabajo: COMPLEJO ASISTENCIAL CLINICO UNIVERSITARIO*

*Localidad: SALAMANCA*

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

#### INTRODUCCIÓN:

La gasometría constituye un análisis bioquímico frecuente en el laboratorio de urgencias. Los analizadores permiten a la vez realizar medidas de metabolitos plasmáticos como lactato y glucosa, así como concentración hemoglobina y hematocrito. Estos análisis se realizan en sangre arterial o venosa para el estudio del balance ácido-base sanguíneo, además de obtener otras orientaciones diagnósticas/tratamiento para el clínico.

#### OBJETIVOS:

Obtener resultados por aplicación de diferentes métodos estadísticos que permitan establecer la concordancia entre los dos aparatos y la reproducibilidad de los análisis usando el equipo de point of care de EPOC, teniendo como referente de bondad el equipo usado habitualmente GP4000.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se han realizado 43 análisis gasométricos, metabólicos y hematológicos a partir de muestras de pacientes del Servicio de Urgencias del Complejo Asistencial Clínico Universitario de Salamanca. Las muestras son obtenidas en jeringas para gasometría tratadas con heparina de litio. Previa suave homogenización de la muestra, se someten al equipo GEM PREMIER 4000 y a continuación se realiza el mismo procedimiento para el equipo de point of care EPOC. Se obtienen los resultados analíticos (medidos y calculados de diferentes variables y parámetros). Se aplican diferentes métodos estadísticos para estudio de concordancia: Coef. Correlación intraclase (CCI),

#### RESULTADOS:

Se obtiene coeficiente de correlación intraclase (CCI) del sistema SPSS que se utiliza para evaluar la concordancia entre diferentes métodos y se basa en el análisis de la varianza con medidas repetidas entre dos respuestas cuantitativas. Se obtuvo para la mayoría de variables medidas y parámetros calculados un ICC en sus modalidades (CCI absoluto y CCI de consistencia) valores >0.9, lo cual indica una buena concordancia entre ambos analizadores. Por otro lado hay dos ítems estrechamente relacionados, Hemoglobina total y hematocrito que presentan CCI en torno a 0.75, quedando éste ligeramente por encima del límite de aceptabilidad de correlación como muy buena.

VARIABLES MEDIDAS	CCI absoluto	CCI consistencia
pH	0,926	0,982

pO2	0,952	0,957
pCO2	0,99	0,991
Ca++	0,812	0,862
Lactato	0,987	0,989
cSO2	0,967	0,981
K+	0,983	0,984
Na+	0,84	0,937
Glucosa	0,987	0,987
Hematocrito	0,759	0,755

PARAMETROS CALCULADOS	CCI absoluto	CCI consistencia
cHCO3	0,977	0,99
Hbt	0,761	0,762
cTCO2	0,978	0,99
EB(b)	0,962	0,985
Beeef	0,963	0,987

### CONCLUSIONES:

Dados los resultados obtenidos se demuestra que el equipo portátil EPOC presenta una concordancia muy buena frente al equipo de sobremesa GP 4000 utilizado en el laboratorio de urgencias, excepto para Hb y Hct que están en el límite.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 059**

### UTILIDAD DE LOS ANTICUERPOS ANTI- TIROGLOBULINA EN EL EXAMEN DE DISFUNCIÓN TIROIDEA AUTOINMUNE CON ANTICUERPOS ANTI PEROXIDASA NEGATIVOS

*Autor/a/s: Ríos Quesada, Catalina; Márquez Galán, M<sup>a</sup> Milagros; Rodríguez Bayona, Beatriz; Jiménez Valencia, Nelia; Sáez-Benito Godino, Ana.*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario Puerta del Mar*

*Localidad: Cádiz*

*Correo electrónico del primer firmante: catirios54@hotmail.com*

### RESUMEN:

La prueba más sensible para la detección de la enfermedad tiroidea de origen autoinmune es la antiTPO. No obstante, The National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) III encontró que el 3% de la población tenía anticuerpos antitiroglobulina (anti-Tg) detectables sin anticuerpos antiperoxidasa (Anti-TPO). En estos individuos que presentaban sólo anti-Tg detectable, no se encontró asociación con anomalías en los valores de hormona tireoestimulante (TSH) sérica, de modo que el significado clínico de un valor anormal de anti-Tg debe ser establecido.

### OBJETIVOS:

Valorar el porcentaje de pacientes que no presentan anticuerpos anti-TPO pero sí anti-Tg en nuestra área hospitalaria y establecer su relación con los niveles de TSH.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realizó una búsqueda en el sistema informático del laboratorio de todas las peticiones del año 2013 que solicitaban anticuerpos anti-TPO y anti-Tg, estableciendo como criterio de selección que presentaran un nivel normal de anti-TPO (<35 U/mL) junto con valores patológicos de anticuerpos anti-Tg (>115U/mL). Se eliminan las analíticas repetidas de un mismo paciente, dejando la inicial. Se recogieron en la historia de laboratorio los datos demográficos (edad y sexo), así como los valores de TSH, tiroxina libre (FT4) y datos previos de perfil tiroideo.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS 15.0. Se realiza un análisis descriptivo de los datos y un análisis del porcentaje de pacientes que tienen valores normales de anticuerpos anti-TPO con anti-Tg patológicos, estudiando posteriormente si tienen relación con los valores de TSH o el resto de los parámetros tiroideos.

### RESULTADOS:

En total tenemos 294 pacientes en los que se cumple el criterio de selección. En cuanto a la distribución de solicitudes, encontramos que 255 son mujeres (86,7%) y 39 son varones (13,3%). La edad osciló entre 6 y 92 años, con una media de 47,2 ± 18 (mujeres 46,6 ± 18,7 y varones 51,3 ± 19.1)

De las 5507 peticiones en las que se solicitaron TSH y ambos anticuerpos antitiroideos, encontramos 294 pacientes (5,3%) en las que sólo es patológico el valor de anti-Tg.

De estos pacientes, 28 (9,5 %) tenían la TSH por debajo del rango de referencia (<0.27 U/L), 171 (58,2 %) estaban en el rango normal y 89 (30,3%) la tenían por encima de dicho rango (4.2 U/L). En 6 pacientes (2%) sólo se solicitaban anticuerpos.

Se hace la prueba de Kolmogorov-Smirnov y se observa que las variables tiroideas son no paramétricas, por lo que se describen con la mediana y rango intercuartílico (RIC). Para antiTg encontramos una mediana global de 291 (RIC: 173-455), en hipertiroideos de 387 (252-538), en eutiroides de 278 (168-446) y en hipotiroideos de 287 (168-454)

Se estudia la correlación entre TSH y anti-Tg y se encuentra un coeficiente Rho de Spearman muy bajo y no significativo, tanto a nivel global como en cada uno de los grupos tiroideos.

Al realizar un test de Jonckheera-Terpstra para comparar las medianas de anti-Tg según niveles de TSH establecidos, no se encuentran diferencias significativas entre los tres grupos de estatus tiroideo, aunque sí en las restantes variables como era de esperar.

### CONCLUSIONES:

1. Hay una baja prevalencia de anti-Tg positivos en pacientes con anti-TPO negativos en nuestra población (5.3%), pero superior a la encontrada en la NHANES III (3%), estando presentes mayoritariamente en hipo y eutiroidismo.
2. No se encuentra correlación entre los niveles de TSH y la concentración de anti-Tg, por lo que la cuantificación seriada de estos anticuerpos no es útil como marcador de evolución.
3. Al ser anti-TPO una prueba más sensible para hipotiroidismo, se podría plantear un algoritmo diagnóstico en el que sólo se determinaran anti-Tg en pacientes hipotiroideos con anti-TPO negativos, evitando su determinación indiscriminada.
4. Habría que estudiar la significación clínica de la presencia de anti-Tg en pacientes con valores en el rango normal o alto de TSH y ver cómo evolucionan a lo largo del tiempo, dado que la presencia de autoanticuerpos implica un estado auto reactivo de base.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 063**

### EVALUACIÓN DE ELECTROLITOS Y GLUCOSA EN EL ANALIZADOR DE GASES ABL700 Y COBAS 501. COMPARACION DE METODOS

*Autor/a/s: FERNANDEZ RANCHAL, JOSÉ FÉLIX; MACIAS BLANCO, CARLOS.*

*Centro de trabajo: HOSPITAL VALLE DEL GUADIATO*

*Localidad: PEÑARROYA (CÓRDOBA)*

*Correo electrónico del primer firmante: jofefer55@hotmail.com*

### RESUMEN:

Introducción. Por todos es sabida la importancia de la determinación de glucosa para el diagnóstico de Diabetes Mellitus, Diabetes Gestacional o cualquier tipo de Intolerancia a los Hidratos de Carbono. Por otra parte, la medición de electrolitos es vital para la toma de decisiones en las unidades de urgencias y cuidados intensivos. Por tanto se hace necesario una emisión de resultados rápida y fiable por parte del laboratorio clínico.

### OBJETIVO:

Comparar los valores de Na+, K+, Cl- y Glu sanguíneos obtenidos en el gasómetro ABL700 de radiometer con los valores del analizador COBAS 501 de Roche diagnostic para ver si pueden ser intercambiables.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se estudian 40 muestras de suero donde medimos electrolitos en gasómetro

ABL700 de RADIOMETER (potenciometría directa) y en módulo ISE de COBAS 501 de ROCHE (potenciometría indirecta). La glucosa es medida por el método de hexoquinasa.

#### RESULTADOS:

Para la comparación de resultados utilizamos los métodos de Passing-Bablok y Bland-Altman. Con el primero de ellos calculamos el coeficiente de correlación, pendiente y constante de la recta de regresión entre los dos analizadores, con sus correspondientes intervalos de confianza. Para todos los analitos estudiados el intervalo de confianza de la pendiente contiene el 1, lo que indica una proporcionalidad total entre los métodos. Glucosa:  $Y = -1,2449 + 1,0255 X$  Intercept A : -1,2449 95% CI : -8,7778 to 2,0000 Slope B : 1,0255 95% CI : 1,0000 to 1,1111 Na:  $Y = -2,5000 + 1,0000 X$  Intercept A : -2,5000 95% CI : -49,3333 to -2,5000 Slope B : 1,0000 95% CI : 1,0000 to 1,3333 K:  $Y = -0,1000 + 1,0000 X$  Intercept A : -0,1000 95% CI : -0,1000 to -0,1000 Slope B : 1,0000 95% CI : 1,0000 to 1,0000 Cl:  $Y = 14,9286 + 0,8571 X$  Intercept A : 14,9286 95% CI : 0,0000 to 34,6667 Slope B : 0,8571 95% CI : 0,6667 to 1,0000

#### CONCLUSIONES:

Nuestros resultados confirman la intercambiabilidad de resultados entre la metodología más utilizada actualmente en los Laboratorios como es el ISE indirecto y el ISE directo que utilizan los nuevos gasómetros que se introducen en la clínica

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 064**

### INFORME DE VALORES CRÍTICOS POR EL LABORATORIO

*Autor/a/s: FRANCISCA BORONAT LLORET, MARIA DE LOS REYES GARCIA SANCHEZ, ANA MARIA POZO PEÑA*

*Centro de trabajo: S.A.S. HOSPITAL LA LINEA*

*Localidad: LA LÍNEA DE LA CONCEPCIÓN*

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

#### INTRODUCCIÓN:

Algunos resultados de laboratorio pueden indicar una patología crítica o incluso amenazante para la vida del paciente a no ser que se tomen las medidas oportunas.

La detección y comunicación de estos valores críticos de forma urgente es una de las funciones del laboratorio que más repercusión tiene sobre la seguridad del paciente.

Por este motivo es fundamental para asegurar una atención médica adecuada y prevenir los resultados adversos ocasionados por el retraso en el tratamiento informar estos resultados críticos tan pronto como sea posible, pero solo después de su verificación.

No obstante, a pesar de su importancia no siempre resulta sencillo comunicar este tipo de información.

Dentro de las normas de buena práctica del laboratorio es obligado el establecimiento de protocolos escritos de comunicación de valores críticos.

Por estos motivos decidimos llevar a cabo la implantación en nuestro laboratorio de un protocolo de comunicación de resultados críticos, en el que se especificaron los valores críticos para cada parámetro así como las correspondientes medidas a realizar por parte del personal de laboratorio.

#### OBJETIVO:

El objetivo de este trabajo es describir nuestro protocolo de comunicación de resultados críticos y valorar los resultados obtenidos en los primeros meses tras su implantación.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Hemos definido una serie de parámetros críticos basándonos en nuestra experiencia y en las últimas recomendaciones bibliográficas, en consenso con los facultativos de nuestra área sanitaria.

El procedimiento de actuación ante un resultado crítico es el siguiente:

1. Identificar que resultado de laboratorio constituye un valor crítico.
2. Comprobar que no existen antecedentes en la historia reciente del paciente
3. Descartar la existencia de interferencias

4. Verificar la exactitud de la medida mediante la repetición del estudio, si es posible en otro analizador.

5. Comunicación inmediata, vía telefónica, al médico responsable de la solicitud (u otra persona responsable).

6. Registro de la llamada en el sistema informático del laboratorio (SIL) Modulab (Izasa).

Se realiza una búsqueda de los valores críticos registrados en el SIL Modulab (Izasa) desde la puesta en marcha de este protocolo en Agosto de 2013 hasta Enero de 2014.

#### RESULTADOS:

En el período estudiado se han informado en nuestro laboratorio un total de 280 parámetros críticos.

La mayoría de las analíticas (66.4% de ellas) procedían de los servicios de Urgencias y UCI, el 9.3% de consultas de atención primaria, un 8.6% de consultas de cirugía y digestivo, un 7.1% de pacientes ingresados en planta, el 6.4% de pacientes de paritorio y pediatría y el 2.1% restante de pacientes de hemodiálisis.

En cuanto a los parámetros bioquímicos informados, lo más frecuente han sido alteraciones en la glucosa, 43.6% del total, de las cuales el 27.9% fueron por hipoglucemias por debajo de 45 mg/dL y el 82.1% por hiperglucemias superiores a 450 mg/dL. En segundo lugar, con un 16.8%, alteraciones en suero de iones, K, Na y Cl, seguido de alteraciones en la gasometría arterial (15%), urea mayor de 214 mg/dL y creatinina mayor de 7.4 mg/dL en un 7.9%, Bilirrubina total mayor de 14 mg/dL un 5.4%, amilasa mayor de 450 UI/L un 3.9%, Digoxina mayor de 4ng/mL, 2.9%, Calcio mayor de 13mg/dL 2.5%, Magnesio mayor de 4.7 mg/dL 1.4%, y fósforo mayor de 9mg/dL un 0.7%.

#### CONCLUSIONES:

El servicio con mayor número de analíticas en las que se ha informado algún parámetro crítico ha sido urgencias, siendo la hiperglucemia la alteración más comúnmente encontrada en estos pacientes.

Un gran número de parámetros críticos informados correspondían a pacientes extrahospitalarios, en los que el informar de forma urgente de estos resultados facilitó una atención médica adecuada.

El diseño adecuado de una lista de valores críticos y el cumplimiento de los procedimientos de comunicación establecidos mejoran la seguridad de los pacientes, ya que nos permiten identificar y tratar de forma precoz al paciente crítico.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 065**

### GESTIÓN DE LA DEMANDA EN EL LABORATORIO CLÍNICO: HEMOGLOBINA GLICOSILADA (HbA1c).

*Autor/a/s: FRANCISCA BORONAT LLORET, SUSANA DOMINGUEZ CORDOBA, MARIA DEL MAR GARCIA GONZALEZ*

*Centro de trabajo: S.A.S. HOSPITAL LA LINEA*

*Localidad: LA LÍNEA DE LA CONCEPCIÓN*

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

#### INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS:

En los últimos años se ha sugerido que entre un 25% y un 40% de los análisis solicitados por el clínico pueden ser cuestionables suponiendo un aumento innecesario del gasto sanitario.

Este hecho junto con la progresiva restricción de recursos que afecta a los sistemas de salud, hace que los laboratorios clínicos comiencen a poner en marcha planes de Gestión de la Demanda para ayudar a eliminar procedimientos innecesarios, así como una optimización de los tiempos de respuesta y una mayor eficiencia en la utilización de los recursos en el laboratorio clínico.

La Hemoglobina glicosilada (HbA1c) es el parámetro más utilizado para el seguimiento de la diabetes, ya que refleja los valores medios de glucosa en sangre del paciente en los 2-3 meses anteriores. El Protocolo asistencial integrado (PAI) de Diabetes recomienda en base al resultado previo, como mínimo, 2 determinaciones de HbA1c anuales.

No obstante un gran número de determinaciones de HbA1c se realizan de forma inadecuada por realizarse principalmente de forma más temprana a la indicada.

El objetivo de este trabajo será valorar el impacto obtenido en nuestro laboratorio durante el año 2013 al realizar una gestión de la demanda en la solicitud de la HbA1c.

#### **MATERIAL Y MÉTODOS:**

Durante el pasado año, hemos realizado gestión de la demanda de la Hemoglobina glicosilada (HbA1c, de forma automatizada, con el Sistema Informático del Laboratorio (Modulab, IZASA))

Si el paciente tiene un resultado previo de HbA1c dentro de los valores de normalidad (<7%) y la petición se realiza antes de los 6 meses, se anula la petición y se añade el siguiente motivo de rechazo: "No procede. Paciente controlado con resultado previo <7% en los últimos 6 meses".

Si el resultado anterior era patológico (>7%), y la petición se realiza antes de los 3 meses, el motivo de rechazo es: "No procede. Resultado previo en 3 meses".

#### **RESULTADOS:**

A lo largo del año 2013 se solicitaron un total de 14640 determinaciones de HbA1c, de las cuales, fueron eliminadas 1956 (13.23%), de éstas, 1392 (71,16%) de las peticiones presentaban un valor previo normal, y 564 (28,84%) presentaban un valor previo patológico.

#### **CONCLUSIONES:**

La puesta en marcha de un Plan de Gestión de la Demanda, junto con otras estrategias combinadas, puede llevar a un uso más eficiente del laboratorio por parte de las Unidades Clínicas y a una mejor gestión de la demanda intralaboratorio reduciendo de manera significativa el gasto económico.

Dados los resultados obtenidos durante este año, nos planteamos ir aumentando progresivamente el número de determinaciones incluidas en nuestro Plan de Gestión de la Demanda.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 067**

#### **"USO ADECUADO DE LA PRUEBAS DE LABORATORIO: OBJETIVOS DE CALIDAD 2013"**

*Autor/a/s: Dolores Serrano Solís, María Estrella Peco Ruíz, Trinidad Expósito Martín-Consuegra, Esther Fernández Grande, Teodoro Javier Palomino Muñoz, María del Pilar García-Chico Sepúlveda*

*Centro de trabajo: Hospital General Universitario Ciudad Real*

*Localidad: Ciudad Real*

*Correo electrónico del primer firmante: Ilcla3@yahoo.es*

#### **INTRODUCCIÓN:**

La Norma ISO 9001: 2008, para la cual el sistema de calidad de nuestro laboratorio está certificado desde el año 2010, promueve el establecimiento de objetivos de calidad como instrumento de mejora. El uso adecuado de las pruebas diagnósticas es un elemento fundamental en la calidad, pues evita sobrecargas de parámetros innecesarios que pueden repercutir en la calidad de los resultados de otros parámetros necesarios.

En este contexto, durante el año 2013 el laboratorio ha establecido como objetivo de calidad la reducción racional en la realización de CK-MB en el contexto de los marcadores cardíacos en el IAM. En esta comunicación describimos la implantación de este objetivo y valoramos los resultados obtenidos.

#### **MATERIALES Y MÉTODOS:**

Marcamos como objetivo de calidad una reducción del uso de la CK-MB en el contexto de marcadores cardíacos, en el diagnóstico de IAM, según medicina basada en la evidencia, cuando los valores de TNI (Troponina I) se encuentran en rango de normalidad (TNI <0.06 ng/mL). El indicador de este objetivo es el % de CK-MB realizadas frente a las solicitadas. La cuantificación la realizamos con el módulo estadístico de nuestro sistema informático de laboratorio (S.I.L.).

Nuestro S.I.L. SIGLO, nos aporta, además, la herramienta para de un modo automático excluir pacientes de servicios (GFH) como UCI.

#### **RESULTADOS:**

Año 2013: CK-MB solicitadas: 20.999 ; realizadas: 9.382

Nuestro objetivo establecido de forma empírica, valorando las estadísticas de re-

sultados de años precedentes, era reducir un 20% de las realizaciones de CK-MB. Nuestro resultado ha sido muy satisfactorio, pues la reducción real ha sido de un 55,3 %.

El ahorro en el periodo de 2013 en el Laboratorio de Urgencias ha sido de:

11.617 pruebas. Lo que ha supuesto a 1,57 €/prueba: Total 18.238 €.

#### **CONCLUSIONES:**

Los sistemas informáticos permiten a los laboratorios ejercer una actividad moduladora de la demanda clínica en función del origen petionario y de resultados que el médico desconoce. Esta actividad conduce a mejorar la calidad asistencial, al evitar la realización de pruebas que no van a aportar nada al clínico, a la vez que supone una disminución sustancial del coste económico de los laboratorios.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 068**

#### **DETECCIÓN EN ORINA DEL ANTÍGENO DE LEGIONELLA PNEUMOPHILA SEROGRUPO 1 MEDIANTE INMUNOENSAYO CROMATOGRÁFICO: A PROPÓSITO DE UN CASO.**

*Autor/a/s: SUSANA COLLANTE SANCHEZ, ANA MARIA POZO PEÑA, SUSANA DOMINGUEZ CÓRDOBA*

*Centro de trabajo: S.A.S. HOSPITAL LA LÍNEA*

*Localidad: LA LÍNEA DE LA CONCEPCIÓN*

*Correo electrónico del primer firmante: alesus@gmx.es*

#### **INTRODUCCIÓN:**

La enfermedad del legionario recibe el nombre por un brote epidémico producido en 1976 en una convención de la Asociación norteamericana de excombatientes en Filadelfia.

El agente etiológico más común es la bacteria Legionella pneumophila, siendo responsable del 80-90% de los casos notificados de infección por Legionella, representando el serogrupo 1 el 70% de todas las legionelosis. La enfermedad se presenta como una neumonía aguda febril con una mortalidad entre el 25 y 40% de los casos.

La vía de transmisión es aérea, se presenta generalmente en forma de brotes en edificios, sobre todo hospitales y hoteles, en los que se contamina el suministro del agua y se diseminan los organismos en aerosoles a partir de los condensadores por evaporación del aire acondicionado o por contaminación en las duchas. No se ha demostrado transmisión persona-persona.

Entre los factores de riesgo se incluyen inmunodepresión, consumo de tabaco y alcohol, así como una enfermedad respiratoria de base.

Vía de transmisión:

El diagnóstico y tratamiento antibiótico precoz son fundamentales para reducir la tasa de mortalidad.

Existen disponibles en el mercado una gran variedad de técnicas "rápidas" para la detección del Legionella pneumophila con una gran sensibilidad y especificidad que van a permitir un tratamiento más rápido y eficaz.

El objetivo de este trabajo es describir un caso clínico de neumonía por Legionella pneumophila diagnosticado de forma precoz mediante la detección del antígeno en orina.

#### **MATERIAL Y MÉTODOS:**

Se procesa una muestra de orina aislada en recipiente estéril y se realiza la prueba BinaxNOW, un ensayo inmunocromatográfico de membrana que permite el diagnóstico precoz de infección por Legionella mediante la detección del antígeno soluble de Legionella pneumophila serogrupo 1 de pacientes con enfermedad del legionario.

La prueba se interpreta mediante la presencia o ausencia de 2 líneas detectables visualmente de color rosa a púrpura a los 15 minutos, una para la muestra del paciente y otra como control.

#### **RESULTADOS:**

Caso Clínico: Paciente varón de 42 años de edad sin antecedentes de interés, que acude a urgencias tras presentar fiebre de 40°C de dos días de evolución junto con mal estado general y tos con expectoración mucosanguinolenta. Se

solicita analítica completa junto con tres muestras de hemocultivo en pico febril, tres muestras de esputo para estudio de micobacterias (BAAR) y cultivo y se envía muestra de orina para detección de antígeno de Neumococo y Legionella siendo esta última positiva.

En Rx de tórax se evidencia infiltrado intersticial alveolar en lóbulo medio derecho (LMD) sin derrame pleural.

En analítica destaca hemograma con  $21.3 \times 10^9/L$  leucocitos (val.ref: 4.0-10) (62% neutrófilos), proteína c reactiva (PCR) 454.3 mg/L (val.ref:0.0-5.0 mg/L), procalcitonina 5.51 ng/mL (valor compatible con alta probabilidad de sepsis), ácido láctico 19 mg/dL ( val.ref: 3-7 mg/dL ).

Debido a estos resultados obtenidos y al mal estado general del paciente se cursa ingreso con sospecha diagnóstica de neumonía comunitaria por Legionella iniciando tratamiento con broncodilatadores, oxígeno y antibióticos de forma empírica.

Pruebas complementarias: hemocultivos negativos, Estudio de micobacterias negativo en las 3 muestras de esputo. En cultivo de esputo y serología para Legionella se confirma la infección por Legionella pneumophila serogrupo 1 Pontiac Benidorm.

Transcurrida una semana de ingreso en planta el paciente presenta una clara mejoría de su estado general con buena respuesta terapéutica y buena tolerancia a la medicación, en radiografía de tórax se evidencia resolución del cuadro neumónico por lo que se procede a dar de alta domiciliaria.

### CONCLUSIONES:

La detección del antígeno de Legionella pneumophila en orina es una prueba rápida y sencilla, que, realizada por el personal técnico del laboratorio de urgencias, ofrece resultados en 15 minutos permitiendo la detección precoz de 1 a 3 días tras el inicio de los síntomas.

Un resultado positivo sugiere infección reciente o en curso pero debe de confirmarse siempre con los cultivos de esputo y serología.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 080**

### INCIDENCIAS EN MPA-DIRAYA: IMPORTANCIA DE LA FORMACION

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

*Centro de trabajo: HOSPITAL VIRGEN DE VALME*

*Localidad: SEVILLA*

*Correo electrónico del primer firmante: patrichi16@gmail.com*

### INTRODUCCIÓN:

En julio de 2010 se comenzó a implantar en Atención Primaria (AP) de nuestra Área Hospitalaria un nuevo modelo de petición analítica, la petición electrónica, mediante el Módulo de Pruebas Analíticas (MPA) de Diraya. Con la introducción de dicho módulo ha disminuido considerablemente las incidencias de la fase preanalítica en cuanto a seguridad del paciente. Sin embargo, desde su comienzo, el uso de dicha petición no ha sido homogéneo en todos los centros. El laboratorio ha tenido durante el proceso de implantación un papel activo en cuanto a registro de incidencias, formación de todo el personal implicado y ha ido realizando un seguimiento individualizado de cada centro de salud trabajando con los mismos para la corrección de forma individualizada de las incidencias que se repetían de forma sistemática.

### OBJETIVO:

Determinar el uso real de la petición electrónica antes y después de una intervención activa por el laboratorio para mejorar su uso, tanto en número de peticiones como en disminución de incidencias.

### MATERIAL Y MÉTODO:

Durante el mes de Abril de 2012 se analiza el porcentaje de peticiones electrónicas con respecto al total de peticiones que recibimos de cada Centro de Salud. Así mismo se registran las distintas incidencias que se producen en los mismos. Se realiza una notificación a los directores de cada centro sobre estos porcentajes y se acuerda una fecha de formación específica para cada uno de ellos que incluya a todo el personal implicado en cada una de las fases del proceso de petición electrónica durante el mes de julio de 2012 se vuelve a calcular los porcentajes de

peticiones por centro.

### RESULTADOS:

En Abril del 2012, el porcentaje total de petición electrónica fue del 66%, variando según los diferentes CS desde el 38,9% al 100%.

Tras la formación, en Julio de 2012, el uso de la misma ha sido del 78%, variando desde el 57,4% hasta el 100%.

Las incidencias se clasificaron en 5 grupos.

Los resultados antes y después de la intervención aparecen en la siguiente tabla.

1. No extracción.
2. No asignación laboratorio receptor.
3. No "pendiente de extracción".
4. Transporte "no valido".
5. Incidencias evitables.

Con un total de incidencias de 792 en la pre-intervención y de 141 en las post-intervención.

### CONCLUSIONES:

Una vez llevada a cabo la formación en los distintos centros de salud, el uso de la petición electrónica aumento en la mayoría de los mismos, situándose en torno al 80%. Con la formación continuada que se ha seguido realizando en los distintos centros actualmente el grado de implantación es del 96%.

Una vez llevada a cabo la formación en los distintos Centros de AP, el número de incidencias disminuyó de 792(7%) a 141(1,3%), lo que supone una disminución de incidencias del 79,16%, siendo solucionadas inmediatamente la mayoría de ellas en cada centro de salud, y notificadas el resto al laboratorio.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 089**

### HOMA Y RESISTENCIA A LA INSULINA EN INDIVIDUOS SANOS

*Autor/a/s: RÍOS RAMOS MARÍA JOSEFA; MONGE CAMACHO MARIA DEL PATROCINIO; VILORIA PEÑAS MARIA DEL MAR*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE VALME*

*Localidad: SEVILLA*

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

### INTRODUCCIÓN:

La homeostasis de la glucosa se mantiene dentro de los parámetros de la normalidad gracias a la estrecha y permanente intercomunicación entre los tejidos sensibles a la insulina (músculo, hígado y tejido adiposo) y la célula beta. La disminución de la capacidad de la insulina para ejercer sus acciones biológicas es lo que se ha denominado Resistencia a la Insulina (RI). El método HOMA (Homeostasis Model Assessment) es un procedimiento de estimación indirecta, mediante cálculos matemáticos, de la Resistencia a la Insulina.

### OBJETIVO:

Relacionar el HOMA, como medida de la Resistencia a la insulina, con el índice de masa corporal, con distintas medidas antropométricas y con los porcentajes de masa grasa y magra en individuos sanos, jóvenes y no obesos.

### MATERIALES Y MÉTODOS:

Se seleccionaron 44 individuos sanos, 29 hombres y 15 mujeres con un rango de edad de 20 a 59 años. Se midió la glucosa por fotometría en el Cobas C711 (Roche Diagnostics), insulina por electroquimioluminiscencia en el E170 (Roche Diagnostics) y se toma nota del peso, talla, medidas antropométricas (diámetro de cadera, cintura, brazo y gemelo, pliegues bicipital, tricipital, escapular e iliaco) y se realiza una bioimpedancia (Tanita) para el cálculo de masa grasa y magra. Los resultados se analizaron mediante correlación múltiple de Pearson (paquete estadístico SSPSWIN).

### RESULTADOS Y CONCLUSIONES:

1. La resistencia a la insulina viene estrechamente correlacionada ( $r=0.97$ ,  $p<0.001$ ) con los niveles circulantes de insulina, mientras que los niveles de glucemia contribuyen sólo a la respuesta insulínica sólo en un 60% ( $r=0.58$ ,  $p<0.001$ ).

2. No se observa que existan correlaciones de niveles de insulina, de glucosa, ni de resistencia a efecto de la insulina (HOMA) con ninguna de las medidas antropométricas, ni con los porcentajes de masa grasa o masa magra corporal (medidos por bioimpedancia).

3. Esta falta de correlación en gente joven, sana y no obesa es distinta a la observada en individuos con patología metabólica y/o endocrina (obesidad, síndrome metabólico, diabetes, ovario poliquístico,...) en la que la resistencia periférica a insulina viene favorecida por el aumento de tejido graso.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 090**

## **COMPARACIÓN DE DOS METODOS PARA EL ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN DE CÁLCULOS RENALES**

*Autor/a/s: Gómez Peinado, Marisol. Saura Montalbán, José. Arévalo Pérez, María Luisa. Piqueras Martínez, Ana Nieves. Fragua Rodríguez, Dolores. Gómez López, Amparo. López Medina, Julián. Gómez Serranillos Reus, Manuel.*

*Centro de trabajo: Hospital Virgen de la Salud*

*Localidad: Toledo*

*Correo electrónico del primer firmante: ms.g.p@hotmail.com*

### **INTRODUCCIÓN:**

La litiasis renal, también llamada urolitiasis o nefrolitiasis, constituye una enfermedad causada por la presencia de cálculos a lo largo del sistema excretor urinario (pelvis renal, uréteres, vejiga). Afecta a una alta proporción de la población, alcanzando una prevalencia de 5% entre las mujeres y 10% en los hombres, entre los 15 y 45 años de edad. El proceso de formación del cálculo se basa en la saturación de solutos en orina, que dependen del pH y la temperatura. Entre los factores ambientales asociados a urolitiasis se encuentran el clima y la dieta, por lo que conocer su composición es importante a la hora de iniciar tratamiento preventivo.

### **OBJETIVOS:**

Comparación de dos métodos para la determinación de la composición de los cálculos renales; espectrofotometría infrarroja, método de referencia, y un método químico, basado en la determinación semicuantitativa de los componentes del cálculo.

### **MATERIAL Y MÉTODOS:**

Se emplea el espectrofotómetro Spectrum two de la casa comercial Perkin Elmer, técnica que permite la obtención de información de los procesos de absorción y emisión sobre las partículas que se encuentran en la materia, frente a un método químico manual, empleado para la determinación semicuantitativa de los componentes principales de los cálculos urinarios, utilizando el kit Urinary Calculi análisis (Diasys) de la casa comercial Diagnostic System GmbH. Se recogieron y procesaron por ambos métodos y de forma paralela, 33 muestras llegadas a nuestro laboratorio. Se estableció un primer grupo constituido por cálculos de un solo componente y un segundo, formado por aquellos de más de un componente. Los resultados obtenidos fueron analizados y comparados de forma manual.

### **RESULTADOS:**

*Cálculos de un solo componente*

Se obtuvo una concordancia del 100% entre ambos métodos en aquellos cálculos cuya composición era de oxalato cálcico, ácido úrico y cistina, mientras que en el caso de los cálculos de fosfato cálcico existe una discordancia entre ambos métodos, obteniéndose a través del método químico un 40% de oxalato cálcico junto a un 60% de fosfato cálcico.

*Cálculos con mezcla de componentes*

En cuanto a los cálculos de ácido úrico y oxalato cálcico existe una concordancia entre ambos métodos en cuanto a componentes, siendo el porcentaje de úrico menor en el método químico que por espectrofotometría.

En aquellos cálculos constituidos por oxalato cálcico, fosfato cálcico y fosfato amónico magnésico, obtenemos una concordancia entre los dos primeros, mientras que en el caso del de fosfato amónico magnésico, si su contenido es inferior al 40%, el método químico no lo detecta.

En los cálculos constituidos por mezcla de fosfatos (fosfato cálcico y fosfato amónico magnésico), existe una clara discordancia entre ambos métodos. El método químico infravalora el porcentaje de fosfato amónico magnésico entre un 70-75%, sobreestima la presencia de fosfato cálcico en un 60-65% y detecta un pequeño porcentaje de oxalato cálcico, ausente por el método de referencia.

### **CONCLUSIONES:**

El método químico manual presenta una sensibilidad y especificidad equiparable al método de referencia cuando se trata de cálculos de un solo componente y siempre que sean de oxalato cálcico, úrico o cistina, siendo para el resto de casos la espectrofotometría infrarroja la técnica más precisa. Dadas las limitaciones del método químico manual y en base a los datos obtenidos, podemos concluir que la espectrofotometría infrarroja es hoy día la técnica de referencia.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 091**

## **VALORACION DE LA ESTABILIDAD DE LA GUCOSA Y VIT D**

*Autor/a/s: ANA MARIA SASTRE GARROTE, CONSUELO BOYERO SIERRA, ROSA AGUADERO MARTIN, MELANIA HERNANDEZ BENITO, PIEDAD MATAS LLORENTE, FERNANDO MARQUES GARCIA\*, MARIA LUISA HERNANDEZ CERCEÑO\*\**

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA*

*Localidad: SALAMANCA*

*Correo electrónico del primer firmante: anita63@hotmail.es*

### **INTRODUCCIÓN:**

El Hospital Universitario de Salamanca presta asistencia a una población de 350.000 habitantes, repartidos en 14 Centros de Salud en la ciudad y 27 en los municipios, cuya distancia en 7 de ellos supera los 100 Km.

El horario de extracción es de 8 a 9 horas de la mañana en los Centros de Salud

En condiciones desfavorables podemos llegar a tener una demora de 6 horas desde la extracción a la realización de la analítica.

### **OBJETIVOS:**

Valorar la estabilidad de la glucosa y 25 OH vitamina D en muestras recibidas en el laboratorio procedentes de los Centros de Salud tanto urbanos como rurales.

### **MATERIAL Y MÉTODOS:**

Se estudian los niveles de glucosa en 50 pacientes. Se utilizan dos muestras de cada paciente, una se procesa inmediatamente y la otra se reserva sin centrifugar y a temperatura ambiente durante 6 horas. Así recreamos las peores condiciones de las muestras que llegan de los Centros de Salud más alejados.

A todas ellas se les determina la glucosa en el analizador COBAS 8000 ROCHE DIAGNOSTICOS,

(método enzimático).

A 74 pacientes se le ha realizado la Vit D en la muestra recién extraída (Vit D 0) y se les ha repetido la cuantificación a las 24 horas (Vit D 24 h) habiendo pasado todos los sistemas automáticos de distribución del laboratorio.

Se han procesado en el analizador COBASe 411 de ROCHE DIAGNOSTIC (inmunoensayo de electroquimioluminiscencia), Aplicamos el software estadístico MedCalc, obteniendo los mismos resultados.

### **RESULTADOS:**

Las poblaciones a estudio, tanto la glucosa como la Vit D, no sigue una distribución normal en base al test de Kalmogorov-Smirnov. La glucosa 0 h presenta una mediana de 94.5(88-101.4,95% IC) frente a una mediana de la glucosa 6h de 85.5 (80-93). Se hizo una comparación entre la glucosa 0h y 6h presentando un alto nivel de correlación entre las muestras estudiadas ( $R^2=0.99$ ). La ecuación de la recta ( $Y=11.6+0.97X$ ) n° valor de pendiente de 0.97 (0.94-1, 95% IC) y un valor de corte en el eje de ordenadas de 11.26 (8-14.1, 95% IC).

En cuanto a la Vit D: VitD 0h presenta una mediana de 14.86 (13.35-19.99, 95%IC). La comparación entre dichas poblaciones también presenta un nivel óptimo ( $R^2=0.964$ ). La pendiente de la recta de correlación tiene un valor de 0.91 (0.87-0.95, 95%) y el valor de corte en el eje de ordenadas de 0.37(-0.48-1.22,95%),  $Y=0.37+0.97X$ .

## CONCLUSIONES:

A pesar del buen nivel de correlación, la glucosa medida en muestras que no se han centrifugado en 6 horas presenta una disminución de 11.26 mg/dl en su concentración con respecto a la glucosa. Vemos la necesidad de que las muestras se centrifuguen en el punto de origen de la extracción y medida en muestras recientes y se transporten a temperaturas no superiores a 8 grados centígrados

Con respecto a la Vit D 0h se observa una pequeña disminución de la concentración suficiente, como para seguir utilizando el proceso preanalítico (MPA) establecido actualmente en el Laboratorio.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 092**

### ESTUDIO COMPARATIVO DE DOS MÉTODOS DE CRIBADO PRENATAL

*Autor/a/s: JULIA EDUVIGIS MARTIN GARCIA, DEMETRIA HERNANDEZ BENITO, CELEDONIA AGUADO FRAILE, FLORA SIERRA PUPARELLI, PATRICIA FERNANDEZ GONZALEZ, JUAN CARLOS RODRIGUEZ PEREZ, FERNANDO MARQUES GARCIA\*, MARIA LUISA HERNANDEZ CERCEÑO\*\**

*Centro de trabajo: HOSPITAL CLINICO*

*Localidad: SALAMANCA*

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

### INTRODUCCIÓN:

La Gonadotropina Coriónica humana (HCG) está compuesta por dos subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  que pueden aparecer de forma libre en suero, la subunidad  $\alpha$  es común a muchas de las hormonas glicoproteínicas de la pituitaria mientras que la  $\beta$  es específica de la HCG, por otra parte la Proteína Plasmática asociada al embarazo (PAPP-A) es producida en altas concentraciones por el trofoblasto y se eleva de forma constante con la edad gestacional. Ambas pruebas realizadas durante la décima semana del embarazo y como muy tarde en la duodécima, junto con la edad de la gestante y la medicación ecográfica de la translucencia nucal (TN), tienen utilidad en la detección del síndrome de Down.

### OBJETIVO:

Estudiar los dos métodos más frecuentemente usados en nuestro país de cribado prenatal, comparando no sólo las pruebas bioquímicas PAPP-A y

$\beta$ -HCG libre sino también el algoritmo usado en cada uno de los dos métodos,

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se determinó  $\beta$ -HCG y PAPP-A a 50 gestantes procedentes de la consulta de Obstetricia del Hospital Clínico Universitario de Salamanca, la determinación se hizo por quimioluminiscencia en immulite 2000 (SIEMENS) y a su vez en cobas e 411 (ROCHE) por electroquimioluminiscencia. Los riesgos se calcularon con el algoritmo del programa PRISCA de SIEMENS y el programa SsdwLab 6 de ROCHE

### RESULTADOS:

La población tiene un comportamiento no normal para  $\beta$ -HCG y PAPP-A y para los resultados del cribado según Kolmogorov-Smirnov, las medianas para la  $\beta$ -HCG libre son de 47.73ng/dl ( $P_5=16.3$  y  $P_{95}=174.3$ ) en cobas e 411 y de 44 ng/dl ( $P_5=18.7$  y  $P_{95}=162$ ), obteniendo una ecuación de regresión:  $y=0.49+1.04x$  ( $y=ROCHE$ ,  $x=SIEMENS$ ) y un coeficiente de correlación  $r=0.9817$  PAPP-A nos muestra una mediana de 1.79 mIU/ml ( $P_5=0.18$  y  $P_{95}=8.31$ ) (ROCHE) y 1.63 mIU/ml ( $P_5=0.14$  y  $P_{95}=7.83$ ) (SIEMENS) una ecuación de regresión:  $y=-0.005+1.07x$  ( $y=ROCHE$ ,  $x=SIEMENS$ ) y un coeficiente de correlación  $r=0.8060$ .

Los riesgos de cromosomopatía Down se han expresado como el número de probabilidades de feto normal frente a la probabilidad de feto Down y se ha considerado el valor máximo de 10000 debido a que PRISCA no informa valores por encima de esta cifra, el algoritmo PRISCA nos da una mediana de 7260 ( $P_5=137$  y  $P_{95}=10000$ ) y el de SsdwLab 6 tiene una mediana de 10000 ( $P_5=217$  y  $P_{95}=10000$ ). La ecuación de regresión:  $y=1124.66+0.89x$  ( $y=ROCHE$ ,  $x=SIEMENS$ ). Y un coeficiente de correlación  $r=0.7994$ .

### CONCLUSIONES:

A la vista de los resultados podemos concluir que los parámetros de  $\beta$ -HCG y PAPP-A tienen resultados muy similares en los dos autoanalizadores y producen ecuaciones de regresión que nos permiten intercambiarlos, en cambio los algoritmos que valoran los riesgos son muy diferentes de forma que SsdwLab

tiene un valor constante de 1124.66 sobre el valor de PRISCA debido a esto los valores de riesgo alto o bajo deben ser considerados para cada algoritmo y no son intercambiables.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 093**

### MODELO SEIS SIGMA COMO HERRAMIENTA PARA LA DETERMINACION DE ESPECIFICACIONES DE CALIDAD

*Autor/a/s: NÚÑEZ GARCÍA CARMEN, MARQUÉS GARCÍA FERNANDO, SANCHEZ MATEOS BEATRIZ, GONZALEZ MARTÍN SOFÍA, MATAS LLORENTE PIEDAD.*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO*

*Localidad: SALAMANCA*

*Correo electrónico del primer firmante: GARNU12@HOTMAIL.COM*

### INTRODUCCIÓN:

El modelo Seis Sigma es una metodología de mejora de procesos centrada en la reducción de su variabilidad, tratando de eliminar los errores por millón (DPM), oscilando desde un valor de un  $\sigma$  (690.000 DPM) hasta seis  $\sigma$  (3.4 DPM). En el laboratorio clínico se acepta como mínimo de calidad un valor de 3

### OBJETIVOS:

Determinar las especificaciones para implantar un sistema de gestión de calidad basándonos en el modelo Seis Sigma.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se procesaron los resultados diarios de control de calidad interno correspondiente a un periodo de seis meses (julio 2013-Enero 2014)

Se utilizaron los niveles multiqual 1 y2 (BIO RAD) en dos módulos de bioquímica del analizador COBAS 6000 de ROCHE DIAGNOSTICO.

Los datos se recopilaron con ayuda del programa QC NET (BIO RAD).

Para la determinación de las especificaciones de calidad se utilizaron las tablas de consenso publicadas por la Sociedad Española de Química Clínica (SEQC).

### RESULTADOS:

A partir de los valores obtenidos con el software QC NET, se calculó el valor seis sigma correspondiente a 17 analitos por cada nivel y módulo estandarizado en el laboratorio de urgencias. A partir de este valor y con ayuda de las tablas publicadas por la SEQC se determinaron las especificaciones de calidad basados en variabilidad biológica (VB) o especificaciones mínimas de calidad (EMC)

Se obtuvieron los resultados que se describen a continuación.

#### MODULO 1

- Nivel 1 : VB óptima: K ,PT, CK ,GGT, VB deseable : P, UREA, ALT, AMILASA, AST, Ca. VB mínima: ALP,

GLUCOSA , EMC: Li, LDH,Na, Cl, CREATININA,.

- Nivel 2 : VB óptima : k, PT, UREA, CK, GGT, VB deseable: P, ALT, AMILASA, AST, Ca. VB mínima : ALP,

CREATININA, GLUCOSA. EMC: Li, LDH, Na, Cl.

#### MODULO 2

- Nivel 1 : VB óptima: K, PT, AMILASA, CK, GGT. VB deseable: LDH, P, UREA, ALT, Ca. VB mínima: ALT,

AST, GLUCOSA. EMC: Li, Na, Cl, UREA.

- Nivel 2: VB óptima : Na,CL, GLUCOSA, P, ALP. VB deseable: LDH, UREA, AMILASA, AST, Ca, CK, GGT, ALT. VB mínima: - . EMC: Li, PT, CREATININA.

### CONCLUSIONES:

En función del modelo Seis Sigma podemos fijar las especificaciones de calidad basados en las determinaciones de: VB óptima con el 29.4%, VB deseable con un 35.3%, VB mínima con un 11.8% y EMC con un 23.5%. La determinación de especificaciones de calidad basadas en el modelo Seis Sigma representa un parámetro adecuado para la implantación de un módulo de Gestión de Calidad en el laboratorio clínico.

Número: 097

## DETERMINACION DE HIPOTIROIDISMO SUBCLINICO EN GESTANTES DE PRIMER TRIMESTRE EN EL AREA DE SALUD DE LEON: A PROPOSITO DE UN CASO.

Autor/a/s: Fernandez Bajo M<sup>a</sup> Teresa, Sanchez Recio M<sup>a</sup> del Mar, Martin de la Riva Yolanda

Centro de trabajo: Hospital Universitario

Localidad: León

Correo electrónico del primer firmante: galleta-12@hotmail.com

### INTRODUCCIÓN:

En el embarazo encontramos muchos cambios fisiológicos, uno de ellos en la glándula tiroidea que tendrá mayor demanda de síntesis, ya que hasta la semana 18-20 el feto no sintetiza sus propias hormonas tiroideas.

Se produce un aumento del tiroides (hiperplasia glandular) y como consecuencia un aumento de producción de T3 y T4; también encontramos un aumento de la proteína transportadora de las hormonas tiroideas.

Durante el primer trimestre del embarazo encontramos una disminución de la TSH entre un 60-70% alrededor de la semana 10, un aumento de la T3 y T4 hasta la semana 20. También encontramos un aumento de la proteína transportadora de las hormonas tiroideas hasta un 50% en la semana 10. Por tanto los valores normales de TSH en el embarazo son distintos a los valores de referencia para la población normal.

### OBJETIVO:

Seguimiento durante el embarazo de la TSH y T4 libre para el diagnóstico precoz del hipotiroidismo subclínico en un grupo de embarazadas.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Hemos seguido a 200 mujeres gestantes de primer trimestre que llegaron a nuestro laboratorio para determinar el screening tiroideo según protocolo de nuestro hospital. Se realiza primero la determinación de TSH, cuyos valores normales en el embarazo son:

- 1º trimestre: 0.1 -2.5 mUI/L

- 2º trimestre: 0.2-3 mUI/L

- 3º trimestre: 0.3-3 mUI/L

Los valores de T4 libre no varían con respecto a la población normal en general, por tanto los valores de referencia son de 0.9-1.7 ng/100. El método de determinación analítica tanto para la TSH como T4 libre es inmunoensayo por electroquimioluminiscencia en suero (Roche).

Consideramos hipotiroidismo subclínico cuando la TSH está por encima de 2.5 con una T4 libre normal; mientras que hipotiroidismo clínico sería cuando la TSH está por encima de 2.5 con una T4 libre por debajo de 0.9. En los casos de hipotiroidismo subclínico realizamos la determinación de anticuerpos antiperoxidasa ( anticuerpos antimicrosomales) y los anticuerpos antitiroglobulina. La técnica utilizada para los anticuerpos es un ensayo inmunométrico enzimático secuencial en fase sólida por quimioluminiscencia en suero ( Immulite 2000, Siemens).

### RESULTADOS:

De los 200 mujeres estudiadas 75 tenían valores elevados de TSH, 1 con la TSH disminuida o suprimida y el resto (124) eran eutiroides. Los datos encontrados para T4 en todos los casos eran normales. Las pacientes hipotiroideas son remitidas al servicio de Endocrinología para su seguimiento. De los 75 casos de hipotiroidismo subclínico hemos seleccionado uno. Una mujer de 38 años eutiroides antes del embarazo. En la primera analítica del primer trimestre tenía una TSH de 4.13 mUI/L T4 no hay datos. Pasado un mes nos solicitan un nuevo análisis (TSH 3.91 y T4 libre 1.12). A los 15 días nos piden TSH 3.87 y T4 libre 1.1 y anticuerpos antimicrosomales 22.9 ( valores de referencia 0 a 35) y anticuerpos antitiroglobulina 559 (valores de referencia 0 a 40). La paciente fue tratada con tiroxina y pasados 2 meses los valores de TSH fueron 2.86 , T4 libre 1.02 y los anticuerpos antitiroglobulina 224. En el sexto mes de embarazo los valores de TSH eran 1.94, la T4 libre 0.988 y los anticuerpos fueron negativos.

### CONCLUSIONES:

La mayoría de las embarazadas son eutiroides pero hay que tener en cuenta la importancia del seguimiento de la función tiroidea de todas las gestantes en el primer trimestre para detectar un hipotiroidismo subclínico precoz para su tratamiento como hemos visto en el caso expuesto. Es importante tratar el hipotiroidismo para evitar riesgos maternos como partos prematuros, desprendimientos de placenta entre otros; y fetales como disnea y complicaciones neuropsicológicas.

Por tanto concluimos que se debe seguir determinando las hormonas tiroideas a todas las gestantes en el primer trimestre.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 107

## CRIBADO PRENATAL DEL PRIMER TRIMESTRE Y TRATAMIENTO DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA. RESULTADOS PRELIMINARES

Autor/a/s: DEL DEDO TORRE, M<sup>a</sup> ANGELES, JEREZ LOMAS, ENCARNACION

Centro de trabajo: HOSPITAL CLINICO SAN CARLOS

Localidad: MADRID

Correo electrónico del primer firmante: mangedeldedo@gmail.com

### Introducción:

El screening prenatal o cribado del primer trimestre es un conjunto de pruebas no invasivas. Permite identificar las gestantes con riesgo de presentar un feto afecto de aneuploidía, principalmente Síndrome de Down, Síndrome de Patau y Síndrome de Edwards con una sensibilidad del 85-90% y una tasa de falsos positivos del 5%. Para calcular este riesgo se tienen en cuenta la edad de la gestante, la translucencia nucal fetal y la concentración de marcadores bioquímicos plasmáticos maternos: proteína plasmática A asociada al embarazo (PAPP-A) y subunidad beta de la gonadotropina coriónica humana (b-HCG). En las últimas décadas se ha incrementado el número de pacientes sometidas a tratamientos de reproducción asistida. Estos tratamientos consisten en una hiperestimulación ovárica mediante la administración exógena de hormonas como gonadotrofinas (folículo estimulante y la hormona luteinizante) en diferentes dosis y coriogonadotropina alfa para la maduración final de los ovocitos.

### Objetivo:

Evaluar si existe diferencia en los valores de PAPP-A y b-HCG obtenidos en el cribado prenatal entre las gestantes del grupo 1 (no tratadas) y las del grupo 2 (sometidas a tratamientos de fertilización), y la influencia sobre el cálculo de riesgo de cromosopatías.

### Material y Métodos:

Se realizó un estudio prospectivo en el que se incluyeron de forma consecutiva las gestantes que acudieron a la unidad de cribado prenatal del Hospital Clínico San Carlos de Madrid durante el año 2012. Se analizaron los valores del múltiplo de la mediana (MoM) para las concentraciones séricas de PAPP-A y b-HCG de las gestantes del grupo 1 (n=1128) y grupo 2 (n=109). Se excluyeron del estudio las pacientes con gestación gemelar.

El fármaco a utilizar en los tratamientos de reproducción asistida así como las dosis va a depender de la edad de la paciente, patología reproductiva, tipo de tratamiento (fecundación in vitro, inseminación artificial, transferencia embrionaria) y la respuesta a ciclos previos. El tratamiento estadístico de los datos se realizó mediante comparación de medianas con la prueba de chi-cuadrado y la t de student. Se utilizó el programa estadístico SPSS18.

### Resultados:

Al determinar los valores de PAPP-A en sangre materna se observó un valor menor en el grupo 2 (mediana=1,05; IQR=0,71-1,52) en comparación con el grupo 1 (mediana=1,21; IQR=0,81-1,74). La determinación de b-HCG en sangre materna se observó un valor mayor en el grupo 2 (mediana=1,24; IQR=0,89- 1,75) en comparación con el grupo 1 (mediana=1,05; IQR=0,73-1,54).

La mediana de los MoM de PAPP-A es mayor en las gestantes no sometidas a tratamientos de reproducción asistida que la mediana total de gestantes (p=0.017) y la mediana de los MoM de b-HCG para las no sometidas a tratamiento fue mayor que la mediana total de gestantes (p=0.005).

## Conclusión:

Las gestantes que han realizado técnicas de reproducción asistida podrían beneficiarse de un cribado más adaptado, dado que las diferencias encontradas fueron estadísticamente significativas aunque no se puede concluir que esto sea clínicamente significativo. Es necesario continuar con el estudio ampliando el número de gestantes sometidas a tratamientos de fertilidad para poder definir con exactitud la relevancia clínica de estas diferencias.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 118**

### PROTEINA C REACTIVA EN EL INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO

*Autor/a/s: ESTHER MIRANDA ROLDÁN, IRENE CHICA MORAL, MIGUEL ÁNGEL GONZALEZ AGUILAR*

*Localidad: CADIZ*

*Correo electrónico del primer firmante: esther.miranda.87@gmail.com*

## INTRODUCCIÓN:

En el Infarto Agudo de Miocardio (IAM) se produce elevación y después caída de la troponina cardíaca. El isotipo cardíaco de la troponina I (TNI) es un marcador específico de necrosis cardíaca, alcanza niveles anómalos entre 4 y 8 horas después de la aparición de los síntomas, niveles máximos entre las 12 y 16 horas, y se mantiene en niveles elevados en un plazo de 5 a 9 días después del infarto. La National Academy of Clinical Biochemistry, debido a la alta especificidad y sensibilidad de la troponina, ha calificado la troponina cardíaca como el marcador bioquímico preferido para la detección de lesiones de miocardio. La proteína C reactiva (PCR) es una de las proteínas de "fase aguda" cuyo nivel aumenta en suero o plasma como respuesta general a procesos inflamatorios. Los aumentos en los valores de PCR no son específicos y no se deben interpretar sin tener en cuenta la historia clínica del paciente.

El objetivo de este estudio fue valorar la cuantificación de la PCR en suero de pacientes con IAM, mediante su monitorización durante las primeras 48 horas de la enfermedad y su relación con los valores de TNI.

## MATERIALES Y MÉTODOS:

Estudiamos pacientes diagnosticados de IAM en el Servicio de Cuidados Críticos y Urgencias de nuestro hospital, a los que se les determinó:

TNI y PCR en suero inicial y a las 4, 8, 12, 24 y 48 horas desde su admisión en urgencias. La TNI se determinó en Dimensión EXL (Siemens®), mediante inmunoensayo de quimioluminiscencia tipo sándwich homogéneo basado en la tecnología LOCI, utilizando anticuerpos monoclonales anti-troponina cardíaca, siendo los valores de referencia para la normalidad entre 0 y 0,6 ng/mL. La PCR se determinó en Dimensión EXL (Siemens®), mediante inmunoensayo turbidimétrico mejorado de partículas (PETIA), siendo los valores de referencia para la normalidad entre 0 y 0,5 mg/dL. Se realizó análisis estadístico descriptivo mediante el software MICROSOFT EXCEL® y MEDCALC®.

## RESULTADOS:

Estudiamos un total de 21 pacientes con edades comprendidas entre 62 y 85 años (edad media = 73 años), 7 mujeres y 14 hombres.

Se observa un aumento de los niveles de PCR en suero a las 24 horas de evolución del IAM que coincide con el descenso de los niveles en suero de TNI. Los resultados manifiestan una elevación de la PCR que coincide con la recuperación del paciente (descenso de la TNI), lo que puede indicar un proceso inflamatorio secundario al remodelado ventricular tras el IAM. Estos resultados preliminares deberán ser confirmados con estudios posteriores que incluyan un mayor número de pacientes.

## CONCLUSIONES:

Los niveles en suero de PCR en pacientes con IAM se elevan a las 24 horas de evolución de la enfermedad, coincidiendo con el descenso de los niveles de la troponina cardíaca en suero. La elevación de los niveles en suero de la PCR en la evolución del paciente con IAM puede ser un signo de recuperación y mejora de la isquemia miocárdica.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 125**

### EVALUACIÓN DE LA ELECTROFORESIS CAPILAR PARA HbA1c. CORRELACIÓN CON HPLC

*Autor/a/s: GILARRANZ AMADOR, YOLANDA; GALINDO NOVILLO, CARMEN; NAVARRO GARCÍA, ENCARNACIÓN*

*Centro de trabajo: HOSPITAL DOCTOR PESET*

*Localidad: VALENCIA*

*Correo electrónico del primer firmante: yogiam@terra.com*

## OBJETIVO:

Evaluación y comparación de la Electroforesis Capilar (Capillarys® de Sebia, Hispania S.A) para la determinación de HbA1c, con la Cromatografía de intercambio catiónico en fase reversa (HPLC), usada en nuestro laboratorio (Adams™ A1c HA-8180® Arkray, Inc.)

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se trata de una técnica que permite la separación de proteínas en solución según su carga eléctrica mediante la aplicación de un campo eléctrico. Dispone de 8 capilares en línea de 25 µm de diámetro, en cuyo interior se encuentra la disolución que contiene el analito a separar y el tampón encargado de conducir la corriente, siendo necesario aplicar una diferencia de potencial, de hasta 10.000 voltios, que hará que las moléculas se muevan hacia un extremo u otro del capilar, con una temperatura controlada por efecto Peltier. El capilar tiene una ventana que permite el paso de la luz UV generada por una lámpara de deuterio que permite la detección del analito.

Se ha utilizado el software de acceso libre R versión 2.14.2 (2012) para el estudio estadístico.

Se estudia la variabilidad intra e interdía, contaminación por arrastre de muestra y comparación de ambos métodos con 273 muestras tomadas al azar.

## RESULTADOS:

Variabilidad intradía (n=54):

- Nivel 1(5.6%): Media=5.58; SD=0.078; CV=1.4%

- Nivel 2(8.5%): Media=8.54; SD=0.094; CV=1.1%

Variabilidad interdía (n=54):

- Nivel 1(5.6%): Media=5.59; SD=0.077; CV=1.4%

- Nivel 2(8.5%): Media=8.48; SD=0.092; CV=1.1%

Estudio de Correlación:  $r^2$ : 0.991  $r$ : 0.996

$y = 0.987x + 0.15$  (95%IC)

El cálculo de las diferencias a los tres niveles de decisión clínica (6, 7 y 8) fueron: 0.08, 0.06 y 0.05 respectivamente, según gráfico de dispersión de Bland-Altman.

No se observó contaminación por arrastre.

Se descartó un resultado outlier, por posible error post analítico.

La velocidad de ambos equipos resultó similar (40 muestras/hora), siendo los tiempos de inicio y finalización ligeramente superiores en el Capillarys.

## CONCLUSIONES:

El Capillarys presenta las siguientes especificaciones:

- Muy buena reproducibilidad y exactitud.

- Permite identificar mejor las posibles variantes anómalas de Hb que el HA-8180, como de hecho se pudo confirmar una HbS durante el estudio.

- Es un equipo versátil en el que se puede realizar otras determinaciones proteínicas.

Ambos equipos presentan una buena correlación, siendo los resultados transferibles para todos los niveles de decisión clínica.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 126**

### AUTOMATIZACIÓN RSD PRO

*Autor/a/s: ORTEGA OLGA, NAVAJAS PAQUI, ORTIZ PAQUI, PARIENTE PAQUI, BARBA NÚRIA*

*Centro de trabajo: CATLAB*

*Localidad: VILADECALLS*

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

## RESUMEN:

Recepción de muestras Catlab : Automatización RSD Pro

Olga Ortega, Paqui Navajas, Paqui Ortiz, Paqui Pariente, Núria Barba Catlab. Vi-ladecavalls

## INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS:

En el área de recepción de muestras de nuestro laboratorio central, nos llegan diariamente unas 7000 muestras, 6500 corresponden a tubos de suero, EDTA, orinas, citrato y fluoruro EDTA, que se pueden automatizar y 500 a muestras de microbiología (escobillones, parásitos, sangre oculta..), biología molecular, citogenética o citometría de flujo, que se tienen que recepcionar y distribuir manualmente mediante nuestro SIL (Sistema informático laboratorio)

El objetivo de nuestro estudio es intentar automatizar al máximo el proceso de recepción de muestras (lectura del código de barras, para activar la petición) y distribución de las mismas a las distintas áreas, mediante dos RSD Pro, para que sea lo más ágil posible.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Disponemos de 2 RSD Pro, en el RSD 1 pasamos las muestras de Orinas espontáneas, orinas de 24h, citratos y tubos de Fluoruro-EDTA y en el RSD 2 los tubos de suero y EDTA.

Distribución RSD1:

Orinas para bioquímica y urinocultivo, sin destapar tubos, para urinocultivo sin destapar tubos, para tira reactiva, para bioquímica, para prueba de embarazo, Orinas de 24h bioquímica, Orinas 24h Inmunología, Orinas laboratorios externos, Orina 24h laboratorios externos

Fluoruro EDTA para glucosas de revisión de empresas.

Citrato Rutina, Citrato para factores de coagulación

Gradillas de errores

Distribución RSD2 :

EDTA para Hemograma, para Hemograma hospitalización y Hemogramas urgentes, para HbA1c, para Citometría i/o B. Molecular

Suero para MPA de bioquímica, para bioquímica urgente, para Cribado prenatal, para laboratorios externos, para hospitalización, para preoperatorios, para biología molecular.

Gradillas de errores

Los distintos tubos en los RSDs, siempre que sea posible, se colocan en las gradillas específicas de los distintos analizadores, de esta forma las muestras ya pasan directamente al área correspondiente para ser procesadas. Los tubos de suero se pasan por el MPA (modulo preanalítico, unido a los módulos analíticos), para hacer alcuotas, si es necesario, dando prioridad a las muestras urgentes, las de hospitalización, los preoperatorios y las de laboratorios urgentes y externos, previamente distribuidas por el RSD

## RESULTADOS:

Dado que la velocidad de procesamiento de los RSD es de 1200 muestras/hora, esta distribución nos permite que antes de las 15:00h, la practica totalidad de las muestras automatizadas, estén recepcionadas y distribuidas a sus áreas correspondientes y desde recepción de muestras ya se puedan solucionar las incidencias que se encuentran en las gradillas de los errores y preparar las muestras que se derivan a laboratorios externos. Las principales incidencias son: errores de lectura en los códigos de barras, tubos de muestra sin petición, sin código de barras, muestras no definidas en el SIL, muestras que no tienen un destino, muestras ya procesadas o duplicadas... , todas estas incidencias, quedan anotadas en sus correspondientes registros

## CONCLUSIONES:

La actual distribución de los RSDs, nos ha permitido optimizar el trabajo en el área de recepción de muestras, agilizando el proceso de recepción y distribución de muestras y la resolución de incidencias diarias.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 130**

## COMPORTAMIENTO DEL LEVETIRACETAM EN 2 PACIENTES CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA GRAVE

*Autor/a/s: Margarita Lucas Gómez, Ana M<sup>a</sup> Ortega de Francisco, Manuela Martín Gómez, Angustias Vizcaya Horno, M<sup>a</sup> del Pilar Gutiérrez Ramos, Ana M<sup>a</sup> Barbé Crespo, M<sup>a</sup> Isabel Fernández Romerales, Verónica Soto Corral*

*Centro de trabajo: HOSPITAL DOCE DE OCTUBRE*

*Localidad: MADRID*

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

## INTRODUCCIÓN:

Estudio de la utilización de Levetiracetam como monoterapia en las crisis de inicio parcial de la epilepsia en mayores de 16 años.

## OBJETIVO:

Analizar la aparición de picos desconocidos en los cromatogramas de pacientes durante la determinación del Levetiracetam por HPLC.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Historias clínicas de los pacientes.

Análisis de las historias.

Estudio del suero por HPLC.

## RESULTADOS:

Se descartó que fueran medicamentos diferentes al Levetiracetam los causantes de los picos desconocidos de los cromatogramas y se observó que una insuficiencia renal aguda grave era la característica común en los pacientes.

## CONCLUSIONES:

Tanto el Levetiracetam como su metabolito son de eliminación renal por lo que se acumula en los pacientes con insuficiencia renal. Esa es la razón por la que están elevados los picos que aparecen en los cromatogramas.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 143**

## ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LA HEMÓLISIS EN LA DETERMINACIÓN DE TROPONINA I PLASMÁTICA MEDIANTE INMUNOANÁLISIS QUIMIOLUMINISCENTE DE MICROPARTÍCULAS (CMIA) ARCHITECT I2000 (ABBOTT DIAGNOSTICS)

*Autor/a/s: M<sup>a</sup> ROSARIO FERNÁNDEZ CAMPOMANES; ROSA ISABEL LÓPEZ SANTOS; M<sup>a</sup> TERESA GONZÁLEZ GARCÍA; EVA PILOÑETA GONZÁLEZ; VANESSA RODRÍGUEZ GARCÍA; AZUCENA SAMPEDRO GARCÍA, NOELIA BERNAL PÉREZ; GONZALO HIDALGO SACRISTÁN; MARÍA BARBAO SUÁREZ; ANTONIO FREIRE CORBACHO*

*Centro de trabajo: HOSPITAL ALVÁREZ BUYLLA*

*Localidad: MIERES (ASTURIAS)*

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

## INTRODUCCIÓN:

Las subunidades T e I de la troponina cardíaca, marcadores de necrosis miocárdica, desempeñan un papel central en el diagnóstico, pronóstico y estratificación del riesgo en pacientes con síndrome coronario agudo. Dada su importancia diagnóstica el tiempo de respuesta es esencial. Una de las interferencias más frecuentes en las determinaciones bioquímicas urgentes es la hemólisis de la muestra, que de ser muy intensa imposibilita su realización, siendo precisa nueva extracción con el consiguiente retraso, siendo recomendable analizar la validez del resultado de troponina I en muestras hemolizadas.

## OBJETIVOS:

Evaluación de la influencia del grado de hemólisis de la muestra en la cuantificación de la troponina I mediante el ensayo CMIA de Architect i2000 (Abbott Diagnostics) y concreción de la posibilidad de información del valor obtenido de troponina I en una muestra hemolizada, acortándose el tiempo de respuesta de este parámetro y plazos diagnósticos.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Analizador: Abbott Architect i2000 para la determinación de troponina I y ci8000 para la medición del índice de hemólisis mediante espectrofotometría. Muestras de estudio: Se eligió un pool de muestras de plasma del servicio de Urgencias que no presentaban hemólisis, con niveles de troponina I comprendidos en los siguientes rangos: (0.01-0.1);(0.1-1) y >1 ng/mL. Adición de hemoglobina: Se añadieron a cada muestra cantidades crecientes de hemolizado procedente de un concentrado de hematíes empleando el método de Maites, obteniéndose sueros con concentraciones de hemoglobina (Hb) comprendidas entre 0.37 y 4.89 g/L. Análisis de datos: Se tomó como punto de corte para definición de falso resultado un cambio

superior al 20 % del valor del plasma inicial (cambio clínicamente significativo de consenso internacional). Se empleó el software Excel XP (Microsoft Office) para el estudio analítico.

#### RESULTADOS:

Los interferogramas mostraron los siguientes límites de interferencia en los rangos de análisis estudiados: a) (0.01-0.1) ng/mL: > -50 % para Hb 0.37g/dL; b) (0.1-1) ng/mL: -15 % y c) >1 ng/mL: -17 % para Hb 4.89 g/dL.

#### CONCLUSIONES:

La hemólisis de la muestra interfiere negativamente en el ensayo CMIA analizado. En el intervalo de valores (0.01-0.1) ng/mL el error es superior al clínicamente aceptable requiriéndose nueva muestra. En el resto de intervalos el error es aceptable, siendo posible su información en casos de necesidad clínica pero siempre con la indicación de que dicha muestra no sería válida para un estudio seriado.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 152**

### ESTUDIO DE LÍQUIDO ASCÍTICO; CASO CLÍNICO

*Autor/a/s: Cristina Corona Juan y María Margarita Konaten Jurado*

*Centro de trabajo: LABORATORIO DE URGENCIAS HUMT. CATLAB*

*Localidad: TERRASSA*

*Correo electrónico del primer firmante: krispie\_26@msn.com*

#### INTRODUCCIÓN:

El líquido ascítico es un fluido que se acumula en la cavidad peritoneal, normalmente debido a la existencia de cirrosis hepática y con menor frecuencia secundaria a patologías malignas o insuficiencia cardíaca.

#### OBJETIVOS:

Estudio celular y bioquímico en el Laboratorio de Urgencias de una muestra de líquido ascítico de una paciente que acude al Servicio de Urgencias. Se trata de una mujer de 67 años que padece Mieloma Múltiple en remisión y que presenta distensión abdominal de 3 semanas de evolución asociada a astenia progresiva. Ingresó para estudio de ascitis y alteración de la conducta. Se realiza paracentesis evacuadora de 3 litros aproximadamente.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Muestra de líquido ascítico obtenida por paracentesis recogida en 2 tubos:

- Tubo BD Vacutainer con anticoagulante EDTA K2E 3ml para el estudio celular
- Tubo sin aditivo BD Vacutainer, para el estudio bioquímico

Analizadores utilizados:

- Cobas 6000 módulo c501 (Roche)
- Sysmex XT-1800i (Sysmex)

Para la diferenciación celular:

- Microscopio Olympus BX41
- Citocentrífuga LABOFUGE 400e (Heraeus)
- Tinción manual May-Grundwald-Giemsa

#### RESULTADOS:

Estudio macroscópico

- Color y turbidez antes de centrifugar: Amarillento y turbio
- Color y turbidez después de centrifugar: Amarillento y transparente

Estudio microscópico

- LAs-Eritrocitos; C:  $0.01 \times 10^{12}/L$
- LAs-Leucocitos; C:  $0.836 \times 10^9/L$
- Diferenciación celular:

- LAs-Células Polinucleadas; q 15%
- LAs-Células Mononucleadas; q 14%
- LAs-Otras Células; q: 71%. Células de gran tamaño con citoplasma basófilo y vacuolas. Relación núcleo/citoplasma aumentada. Núcleos excéntricos y cromatina laxa. Tendencia del citoplasma a constituir sincitio.

Se aconseja estudio anatomopatológico

Estudio bioquímico

- LAs-Glucosa; c 7,41 mmol/L
- LAs-Proteínas; g 40,30g/L
- LAs-Adenosina- desaminasa; b 0.28  $\mu$ kat/L
- LAs-Lactato-deshidrogenasa; b 11.50  $\mu$ kat/L
- LAs-Albúmina; g 21,58 g/L

#### CONCLUSIONES:

Tras el estudio del líquido ascítico realizado en el laboratorio de Urgencias se orienta como probable ascitis de origen neoplásico.

Días después el informe de Anatomía Patológica es el siguiente: Positivo para células malignas, compatible con adenocarcinoma de origen ginecológico.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 166**

### EVALUACIÓN DE LA INTERCAMBIABILIDAD DE LOS RESULTADOS DE LA CONCENTRACIÓN DE LACTATO EN LOS ANALIZADORES GEM PREMIER 4000 Y COBAS 6000 (C 501)

*Autor/a/s: María Margarita Konaten Jurado y Cristina Corona Juan*

*Centro de trabajo: CATLAB*

*Localidad: Terrassa*

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

#### INTRODUCCIÓN:

Antes de efectuar una sustitución de un analizador por otro, uno de los aspectos a estudiar es la transferibilidad de los resultados.

#### OBJETIVOS:

Comparar los resultados de la concentración de lactato en los analizadores GEM Premier 4000 y Cobas 6000 (c 501) para ver si son intercambiables.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Las muestras (n= 56) proceden de pacientes tanto del servicio de urgencias como de plantas de hospitalización que se procesaron simultáneamente por los dos analizadores.

Espécimen:

Muestras de sangre que se obtuvieron con jeringa de gasometría para extracción de sangre arterial BD A-Line™(jeringa de plástico estéril precargada con heparina de litio liofilizada) y muestras de plasma que se obtuvieron con tubo BD Vacutainer (fluoruro de sodio 6 mg y Na<sub>2</sub>EDTA 12 mg).

Analizadores:

Cobas 6000 modulo c 501 (Roche), cuyo método de medida es enzimático para la concentración de lactato en plasma. Valores de referencia 0.5-2.2 mmol/L.

GEM Premier 4000 (Instrumentation Laboratory) cuyo método analítico es la amperometría para la medición de lactato en sangre. Valores de referencia de 0.9-1.7 mmol/L.

Estudio de transferibilidad de resultados.

La comparación de los resultados procedentes de muestras de pacientes se realizó mediante Passing & Bablok con el programa estadístico Analyse-it + Clinical Laboratory.

#### RESULTADOS:

Se procesaron de manera simultánea 56 muestras y se detectó un error constante (- 0.29, [-0.45;-0.16] IC 95%) y un error proporcional (0.91, [0.83;0.98] IC 95%), p> 0.10.

#### CONCLUSIONES:

Comparados los resultados obtenidos, las diferencias que existen no tienen significación clínica y podemos realizar el cambio de analizador pudiendo utilizar los resultados obtenidos por un método u otro para el diagnóstico y evolución del paciente.

Número: 172

### MAGNASENEMIA EN IRC E INFLUENCIA DE LA DIALISIS

Autor/a/s: SOLEDAD TORRES ULINES, M<sup>a</sup> ROSARIO MEJIAS GARCIA, CARLOTA M<sup>a</sup> GOMEZ ROMAN

Centro de trabajo: HOSPITAL VIRGEN MACARENA

Localidad: SEVILLA

Correo electrónico del primer firmante: soleulines@hotmail.com

#### INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS:

El Mg es el segundo catión intracelular del organismo. Las alteraciones en su concentración

a menudo se obvian en la clínica; y sin embargo las repercusiones clínicas de los trastornos de éste pueden ser importantes (alteraciones cardíacas, neurológicas...), El paciente con IRC puede sufrir elevaciones y/o descensos en su concentración sérica por su propia fisiopatología, dentro de las alteraciones del medio interno.

El objetivo de nuestro trabajo es valorar la frecuencia de aparición de alteraciones de la magnasemia en la IRC y analizar el posible efecto de la Diálisis sobre ésta.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Los pacientes incluidos en el estudio pertenecen al área de Dialisis hospitalaria Virgen Macarena. Se selecciona una cohorte de 48 pacientes. Se les determina los niveles séricos de Mg en dos momentos distintos, antes y después de someterse a diálisis.

El Mg se determina mediante Método Colorimétrico de Azul de Xilidilo.

Las variables cuantitativas se describieron a través de la mediana.

(rango intercuartilico) y las variables categóricas mediante frecuencias.

Las diferencias entre las medias de variables medidas antes y después de la diálisis, se valoran mediante la t de student para datos pareados.

#### RESULTADOS:

El 70,8% de los pacientes en prediálisis presentan hipermagnesemia y únicamente el 29,2% tienen niveles de Mg dentro del rango de referencia (1,7 – 2,6). Mientras que en la postdiálisis, un 33,3% tuvieron niveles altos de Mg; un 64,6% magnesemia normal y un 2,1% niveles por debajo del nivel de referencia.

Respecto a la comparación en los sujetos, antes y después de la Diálisis, se observa una modificación de la magnasemia significativa. Disminuyendo la media de la magnesemia prediálisis de 2,79 (DE 0,44) a 2,58 postdiálisis (DE 0,61), (p=0,043).

#### CONCLUSIONES:

Se observa una alta prevalencia de hipermagnesemia en los pacientes con IRC. Los niveles de Mg disminuyen tras la sesión de diálisis de forma significativa. Esto sugiere la necesidad de realizar estudios que valoren en que medida esta modificación de los niveles de magnesio, influye en los eventos fisiopatológicos asociados a los trastornos de Mg en la IR.

Número: 193

### DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE HCG EN ORINA

Autor/a/s: Francisco Garcia Tirador, María Ines Serrano Fernandez, Ana Flor Navarro Plaza, Jesus María Díaz Campos

Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen Macarena

Localidad: Sevilla

Correo electrónico del primer firmante: pacorubiato@hotmail.com

#### INTRODUCCIÓN:

El análisis One Step hCG en orina es un inmunoensayo cromatográfico diseñando para la determinación cualitativa de la gonadotropina coriónica humana (hCG) para la detección precoz del embarazo.

La hCG es una hormona glicopéptica producida por la placenta durante el embarazo. La concentración de hCG en la orina aumenta de manera constante a un pico de circulación de 50.000 mUI/ml entre la octava y la undécima semana de embarazo. Esta hormona aparece en la sangre y en la orina de las mujeres embarazadas incluso ya a los 10 días después de la concepción.

#### OBJETIVOS:

Cuantificar los test de determinación de hCG en orina durante el año 2013 en el laboratorio de urgencias del Hospital Universitario Virgen Macarena.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Pacientes a las que se le solicitan desde la puerta de urgencias el test de hCG en orina aislada durante el año 2013.

#### PRINCIPIO DEL MÉTODO:

La orina se añade al kit de prueba y se deja migrar a través del dispositivo absorbente. El conjugado anticuerpo-colorante marcado se une a la hCG de la muestra formando un complejo antígeno-anticuerpo. Este complejo se une al anticuerpo anti-hCG en la zona de prueba y produce una banda de color púrpura cuando la concentración de hCG es igual o superior a 25 mUI/ml. En ausencia de hCG no se forma ninguna banda en la zona de prueba.

La mezcla de reacción continúa fluyendo a través del dispositivo absorbente más allá de las zonas de ensayo y de control. El conjugado no unido se une a los reactivos en la zona de control, la producción de una banda de color púrpura demuestra que los reactivos y el equipo de prueba están funcionando correctamente.

Los reactivos que se utilizan en el kit de prueba son una combinación de anticuerpos policlonales de cabra/conejo y anticuerpos monoclonales de ratón en un tampón que contiene proteínas de azida de sodio.

#### SENSIBILIDAD DEL MÉTODO:

La hCG prueba de embarazo en orina, detecta la hCG en concentraciones de 20 mUI/ml. Se recomienda la primera orina de la mañana que, por lo general contiene la mayor concentración de hCG. Sin embargo, se puede utilizar cualquier muestra de orina.

#### RESULTADOS:

Se han recepcionado 2942 peticiones de test de embarazo, para la determinación de la hCG en orina, en el laboratorio de urgencias. De las cuales:

No se han recibido muestra: 36

Muestra derramada en tubo neumático: 1

Positivas: 249

Negativas: 2656

#### CONCLUSIONES:

Se trata de un test con gran especificidad, no interfiriendo con hormonas estructuralmente semejantes (LH, FSH, TSH). Con un alto grado de sensibilidad, detectando la hormona en la orina en concentración de 20 mUI/ml, no mostrando interferencias con medicamentos, glucosa y proteínas que potencialmente podrían hacerlo.

Número: 194

### COMPARACIÓN MÉTODOS DE LABORATORIO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ESCLEROSIS MÚLTIPLE

Autor/a/s: ANA CALVENTE PEREZ, MARIA DEL CARMEN ASTORGA PERALTA, MILAGROS MARQUEZ GALAN, FELISA MAGARIÑOS CAPITAN

Centro de trabajo: HOSPITAL PUERTA DEL MAR

Localidad: CADIZ

Correo electrónico del primer firmante: anacalvente70@gmail.com

#### INTRODUCCIÓN:

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad inflamatoria crónica del sistema nervioso central (SNC).

En la patogénesis están implicadas las células B y anticuerpos.

Los criterios diagnósticos se basan en la anomalía de examen neurológico, evidencia clínica de dos o más lesiones separadas en el sistema nervioso, compromiso de la sustancia blanca, y:

- Dos o más episodios, de más de 24 horas cada uno y separados un mes.
- Progresión lenta o escalonada durante al menos seis meses.

Edad de comienzo entre 10 y 50 años y signos y síntomas que no pueden ser mejor explicados por otra causa.

Ante la sospecha de EM se debe recibir ayuda de imágenes y del laboratorio. Se ha visto la presencia de bandas oligoclonales (BOC) IgG en líquido cefalorraquídeo (LCR) pero no en suero en un 90% de pacientes con EM, lo que indica la síntesis intratecal de inmunoglobulina. No obstante, las BOC y la síntesis intratecal, puede ser encontrado en otras enfermedades del SNC como infecciones, neurotuberculosis, o enfermedad inflamatoria autoinmune.

#### MATERIALES Y MÉTODOS:

Se seleccionaron 38 pacientes retrospectivamente, a los que se les solicitó BOC en suero y LCR, y síntesis intratecal de IgG. 13 pacientes tuvieron un diagnóstico definitivo de EM, el resto padecían episodios aislados u otras enfermedades como encefalitis desmielinizante, polineuropatías, lesiones pseudotumorales o multineuritis.

Las BOC se analizaron por isoelectroenfoque y la síntesis Intratecal con los datos de IgG, y albúmina en suero y en LCR, analizados con el Cobas 711 de Roche y se integraron en el programa protis para la evaluación de síntesis Ig. Como resultado de se obtuvo el Reibergrama y se valoró si existe síntesis intratecal de IgG con dos fórmulas, la de Link (positivo >0.7), y Tourtellute (positivo >3.3).

Los métodos se compararon con el test estadístico chi-cuadrado y se determinó la sensibilidad (S), especificidad (E), Valor predictivo positivo (VPP), Valor predictivo negativo (VPN), Capacidad predictora positiva (CPP), Capacidad predictora negativa (CPN) y la concordancia con el índice Kappa

#### RESULTADOS:

De todos los pacientes, 29 tuvieron una síntesis intratecal positiva por alguno de los dos test (Link o Tourtellute) y 15 tuvieron BOC positiva en LCR.

El resultado de cada técnica para la valoración de EM fue:

- BOCL: VPP= 0.66, VPN= 0.869, S= 0.76 y E= 0.8. CPP= 3.8 y CPN= 0.425

- Formula de Link, VPP = 0.46, VPN= 0.91, S=0.92, E= 0.44, CPP= 1.64 y CPN= 0.18.

- Formula de Tourtellute VPP = 0.42, VPN= 0.76, S=0.69, E= 0.52, CPP= 1.44 y CPN= 0.60

El análisis conjunto de BOC y formula de Link; VPP = 0.714, VPN= 0.875 S=0.769, E= 0.84, CPP= 4.8 y CPN= 0.275.

El índice Kappa entre los dos métodos Link y BOC fue de 0.365, que indica una concordancia débil.

#### CONCLUSIONES:

La formula de Link muestra una mejor sensibilidad, VPN y CPN que la de Tourtellute, por lo que es la más fiable para el diagnostico diferencial de EM.

La formula de Link tiene mayor S (0.92) y CPN (0.18) que las BOC, mientras que las BOC tienen mejor E (0.8) y CPP (3.8) para el diagnostico de EM.

La concordancia entre la síntesis intratecal de IgG y BOC positivas el líquido es débil (Kappa=0.365).

El uso de la formula de Link y BOC positivas, mejora la CPP (4.8), por lo que es importante la inclusión de estos dos métodos para el diagnostico de EM.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 200**

#### VALOR PRONÓSTICO DE LA PROTEÍNA C REACTIVA EN LA PANCREATITIS AGUDA

*Autor/a/s: Pedro Osborne Márquez, Raquel Borrero Díaz, José Diego Santotoribio Camacho, Josefa Boronal Beltrán, Miriam Garrucho García y Juana María Vázquez Blanco*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario Puerto Real*

*Localidad: Puerto real (Cadiz)*

*Correo electrónico del primer firmante: pedro.6.03.92@gmail.com*

#### INTRODUCCIÓN:

La pancreatitis aguda es un proceso auto-digestivo mediado por la activación de las proteasas sintetizadas por el propio páncreas. Atendiendo al pronóstico se clasifican en: Pancreatitis leves o edematosas con una mortalidad del 1% y pancreatitis graves o necrosantes con una mortalidad del 25%. La determinación de amilasa en sangre se utiliza como marcador diagnóstico de pancreatitis aguda, en cambio, no hay relación entre sus niveles y el pronóstico de la enfermedad. La proteína C reactiva (PCR) es una de las proteínas de "fase aguda" cuyo nivel aumenta en suero o plasma como respuesta general a procesos inflamatorios. La elevación de los valores de PCR sérica en pacientes con pancreatitis aguda, se ha propuesto como marcador pronóstico de la enfermedad.

#### OBJETIVOS:

El objetivo de este estudio fue valorar la cuantificación de la PCR en suero de pacientes de nuestro hospital con pancreatitis aguda, mediante su monitorización durante las primeras 72 horas y determinar su relación con el pronóstico de la enfermedad.

#### PACIENTES Y MÉTODO:

Estudiamos pacientes diagnosticados de pancreatitis aguda en el Servicio de Cuidados Críticos y Urgencias de nuestro hospital, a los que se les determinó la PCR en suero al ingreso, a las 24, 48 y 72 horas desde su admisión en urgencias. El diagnóstico de pancreatitis aguda se estableció en pacientes con clínica de dolor abdominal agudo y amilasemia superior a 300 UI/L (valores de referencia: inferior a 100 UI/L). La PCR se determinó en Dimension EXL (Siemens®), mediante inmunoensayo turbidimétrico mejorado de partículas (PETIA), siendo los valores de referencia para la normalidad los inferiores a 0,5 mg/dL. Los pacientes se clasificaron en dos grupos según el tipo de pancreatitis aguda al que evolucionaron: Edematosa o leve y necrosante o grave. El análisis estadístico se realizó mediante el cálculo del área bajo la curva (ABC) de eficacia diagnóstica, usando el programa estadístico MEDCALC®.

#### RESULTADOS:

Estudiamos a 17 pacientes con edades comprendidas entre 17 y 86 años (edad media = 56,4 años), 7 mujeres y 10 hombres. Doce pacientes presentaron pancreatitis leves y cinco evolucionaron a pancreatitis graves. Uno de los pacientes con pancreatitis grave falleció a los 12 días de evolución de la enfermedad. No obtuvimos diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) con la determinación de la PCR al ingreso ni a las 24 horas, para diferenciar entre pancreatitis leves y graves. Con la determinación de PCR a las 48 horas obtuvimos un ABC = 0,955 ( $p < 0,0001$ ), con un punto de corte óptimo de 3,3 mg/dl resultó una sensibilidad del 100% y una especificidad del 81,8%. Con la PCR a las 72 horas obtuvimos un ABC = 0,970 ( $p < 0,0001$ ), con un punto de corte óptimo de 3,3 mg/dl resultó una sensibilidad del 100% y una especificidad del 90,9%. Estos resultados deberán ser confirmados con estudios posteriores que incluyan un mayor número de pacientes.

#### CONCLUSIÓN:

La determinación de la PCR sérica a partir de las 48 horas de evolución en pacientes con pancreatitis aguda es un buen marcador pronóstico de la enfermedad. Determinaciones antes de las 48 horas no son de utilidad para establecer el pronóstico de la pancreatitis aguda.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 201**

#### TROPONINA I CARDIACA Y PROTEÍNA C REACTIVA EN EL INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO

*Autor/a/s: Josefa Boronal Beltrán, Miriam Garrucho García, José Diego Santotoribio Camacho, Pedro Osborne Márquez, Raquel Borrero Díaz y Juana María Vázquez Blanco.*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario Puerto Real*

*Localidad: Puerto real (Cadiz)*

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

#### INTRODUCCIÓN:

En el Infarto Agudo de Miocardio (IAM) se produce elevación y después caída de la troponina cardiaca. El isotipo cardiaco de la troponina I (TNI) es un marcador específico de necrosis cardiaca, alcanza niveles anómalos entre 4 y 8 horas des-

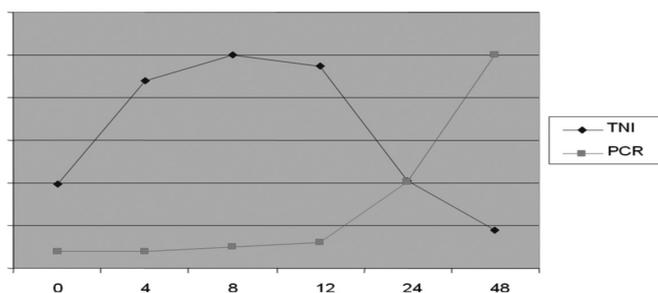
pués de la aparición de los síntomas, niveles máximos entre las 12 y 16 horas, y se mantiene en niveles elevados en un plazo de 5 a 9 días después del infarto. La National Academy of Clinical Biochemistry, debido a la alta especificidad y sensibilidad de la troponina, ha calificado la troponina cardíaca como el marcador bioquímico preferido para la detección de lesiones de miocardio. La proteína C reactiva (PCR) es una de las proteínas de "fase aguda" cuyo nivel aumenta en suero o plasma como respuesta general a procesos inflamatorios. Los aumentos en los valores de PCR no son específicos y no se deben interpretar sin tener en cuenta la historia clínica del paciente. El objetivo de este estudio fue valorar la cuantificación de la PCR en suero de pacientes con IAM, mediante su monitorización durante las primeras 48 horas de la enfermedad y su relación con los valores de troponina I cardíaca.

#### PACIENTES Y MÉTODO:

Estudiamos pacientes diagnosticados de IAM en el Servicio de Cuidados Críticos y Urgencias de nuestro hospital, a los que se les determinó: Troponina I y PCR en suero inicial y a las 4, 8, 12, 24 y 48 horas desde su admisión en urgencias. La troponina I se determinó en Dimensión EXL (Siemens®), mediante inmunoensayo de quimioluminiscencia tipo sándwich homogéneo basado en la tecnología LOCI, utilizando anticuerpos monoclonales anti-troponina cardíaca, siendo los valores de referencia para la normalidad entre 0 y 0,6 ng/mL. La PCR se determinó en Dimensión EXL (Siemens®), mediante inmunoensayo turbidimétrico mejorado de partículas (PETIA), siendo los valores de referencia para la normalidad entre 0 y 0,5 mg/dL. Se realizó análisis estadístico descriptivo mediante el software MICROSOFT EXCEL® y MEDCALC®.

#### RESULTADOS:

Estudiamos un total de 15 pacientes con edades comprendidas entre 62 y 87 años (edad media = 75 años), 5 mujeres y 10 hombres. La media aritmética de los valores obtenidos de TNI inicial fue 33,9 ng/mL, a las 4 horas 75,88 ng/mL, a las 8 horas 86,17 ng/mL, a las 12 horas 81,44 ng/mL, a las 24 horas 35,40 ng/mL y a las 48 horas 15,60 ng/mL. La media de los valores obtenidos de PCR inicial fue 0,55 mg/dL, a las 4 horas 0,54 mg/dL, a las 8 horas 0,68 mg/dL, a las 12 horas 0,82 mg/dL, a las 24 horas 2,81 mg/dL y a las 48 horas 6,88 mg/dL. En la siguiente gráfica se representan las medias aritméticas de TNI y PCR inicial (0) y



#### CONCLUSIONES:

Los niveles en suero de PCR en pacientes con IAM se elevan a las 24 horas de evolución de la enfermedad, coincidiendo con el descenso de los niveles de la troponina cardíaca en suero. La elevación de los niveles en suero de la PCR en la evolución del paciente con IAM puede ser un signo de recuperación y mejora de la isquemia miocárdica.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 219**

### PREVALENCIA DE HIPOTIROIDISMO SUBCLÍNICO EN EL AREA NORTE DE GRAN CANARIA

*Autor/a/s: Minerva del Pino Rodríguez García, Benito Rodríguez Pulido, Pino Afonso Medina, Eduardo Wood García, Yurena Naranjo-Santana, Adil Zaidi, AdexeFulgencio Gonzalez, Manuel Prieto Alcedo*

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

*Localidad: Las Palmas*

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

#### INTRODUCCIÓN:

Se define el hipotiroidismo subclínico, como el trastorno que ocurre en individuos generalmente asintomáticos y se caracteriza por el hallazgo de cifras elevadas de Hormona Tiroestimulante (TSH) con niveles normales de hormonas tiroideas. Es por tanto un concepto bioquímico. A pesar de ser un problema frecuente, su manejo (cribado, diagnóstico, tratamiento) permanece aún controvertido.

#### OBJETIVO:

Estudiar la prevalencia de hipotiroidismo subclínico en los pacientes con estudio tiroideo del Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín (HUGC) durante los primeros 5 meses del año 2011.

#### MATERIALES Y MÉTODOS:

La población a estudio la conforman 52137 pacientes del HUGC con una media de edad de 51,4 ± 19,7 años procedentes de ingreso hospitalario, consultas externas o de atención primaria a los que se les ha solicitado por vía ordinaria estudio tiroideo (niveles de TSH) a nuestro laboratorio. Aquellos con un resultado de TSH > 5 uUI/mL se les ha determinado la tiroxina libre (T4L). La distribución de los pacientes según el sexo está formada por un 65,6% de mujeres y un 34,4% de hombres. Los pacientes se han dividido en tres grupos de edad: <18 años (3116 que representan el 6% del total), entre 18 y 65 años (33935 que constituye el 65,1% del total) y >65 años (15086 que son un 28,9% del total). Los valores que hemos utilizado para definir el hipotiroidismo subclínico son: TSH > 5 uUI/mL y T4L libre entre 0,7 y 1,48 ng/dL. Los resultados han sido recogidos en una tabla del Microsoft Excel 2007. Para el tratamiento estadístico de los datos se ha empleado el paquete estadístico SPSS v.15.

#### RESULTADOS:

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

#### CONCLUSIONES:

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

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 225**

### COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS INMUNOMÉTRICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES SÉRICOS DE INMUNOGLOBULINA G

*Autor/a/s: LUIS ALBERTO MONTERO RODRÍGUEZ, SILVIA ELORZA MÉNDEZ, BEATRIZ ARRIBAS HERRERO, BEATRIZ RANERA GONZÁLEZ, IGNACIO PULIDO LETRÁN, CLARA PÉREZ BARRIOS, ELENA HERNÁNDEZ ÁLVAREZ*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DE HIERRO*

*Localidad: MAJADAHONDA (MADRID)*

*Correo electrónico del primer firmante: ave.luis@hotmail.es*

#### INTRODUCCIÓN:

Las inmunoglobulinas son glicoproteínas de estructura globular producidas por los linfocitos B y las células plasmáticas. Se encuentran en la sangre y otros fluidos biológicos (líquidos intersticiales y secreciones mucosas) así como en la superficie de los linfocitos B, constituyendo su receptor para antígeno (BCR). Los anticuerpos secretados actúan como efectores de la inmunidad adaptativa humoral; se unen a los antígenos para los cuales tienen especificidad y los neutralizan y/o los marcan para ser reconocidos y eliminados. La molécula de inmunoglobulina consta de dos cadenas pesadas idénticas entre sí (que definen la clase) y dos cadenas ligeras también idénticas entre sí (kappa y lambda) unidas por puentes disulfuro. Existen cinco tipos de cadenas pesadas que definen las clases de inmunoglobulinas (IgG, IgA, IgM, IgE e IgD). Además dentro de cada clase existen diferentes subtipos. La valoración de su concentración sérica es una determinación habitual en el laboratorio clínico siendo la clase IgG la más abundante. En nuestro

laboratorio la determinación de IgG se realiza por nefelometría pero existen otras técnicas inmunométricas que permiten determinar las concentraciones de este parámetro. Por problemas en el suministro de reactivos para el método habitual del laboratorio (VISTA) se planteó la determinación de IgG en otro analizador disponible (ADVIA) que emplea distinto método.

#### OBJETIVO:

Comparar dos métodos analíticos - inmunoturbidimétrico y nefelométrico- para la determinación de niveles séricos de inmunoglobulina G.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se analizaron 81 muestras de suero de pacientes del área de nuestro hospital a las que se les había solicitado la determinación de IgG. Los sueros se analizaron de modo paralelo en dos equipos: por turbidimetría en el ADVIA 2400 (Siemens Healthcare Diagnostics) y por nefelometría en el VISTA 500 (Siemens Healthcare Diagnostics). El análisis estadístico de los datos se realizó utilizando el programa MedCal V.11.2.1. Se realizó un estudio de regresión y de correlación por el método Bland-Altman.

#### RESULTADOS:

Las concentraciones de IgG en el grupo de muestras analizado variaron desde valores correspondientes a hipogammaglobulinemia (405mg/dl) a valores de hipergammaglobulinemia (2696mg/dl). Si bien la mayoría de los valores estaban incluidos en el rango de normalidad de este parámetro (700-1600 mg/dl). Se realizó un estudio de regresión ( $y=55.91+0.92x$ ;  $R^2=0.93$ ;  $p<0.001$ ) y un estudio de concordancia mediante el método gráfico Bland-Altman, que representa las diferencias entre la IgG medida en el Vista y el Advia respecto a la media de ambos resultados. La media de las diferencias, correspondientes a los valores de IgG determinados por el Vista menos los valores determinados por el ADVIA, es 27.05 mg/dL ICC 95% (3.6-50.5). Los límites de concordancia están entre la media  $\pm$  2 desviaciones estándar, es decir 27.05  $\pm$  212.06 (239.1 y -185.01)

#### CONCLUSIONES:

No se observaron diferencias significativas en las medidas realizadas por ambos métodos. Se decidió no modificar los valores de referencia al tratarse de una situación transitoria hasta que se restableció el suministro de reactivo del método validado inicialmente por el Laboratorio.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 229**

#### VALORES DE NSE EN LA POBLACION INFANTIL

*Autor/a/s: MARIA FERNANDA GEA LOPEZ, CONSUELO BOYERO SIERRA, MELANIA HERNANDEZ BENITO, FELICIDAD MARTIN ANDRES, SOFIA GONZALEZ MARTIN, CARMEN CASADO HERNANDEZ, FERNANDO MARQUES GARCIA\*, MARIA LUISA HERNANDEZ CERCEÑO\*\**

*Centro de trabajo: HOSPITAL CLINICO*

*Localidad: SALAMANCA*

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

#### INTRODUCCIÓN:

La enolasa (2-fosfo-D-glicerato hidrolasa) es una enzima glucolítica que se presenta en cinco isoformas por la combinación de tres subunidades inmunológicas distintas denominadas alfa beta y gamma.

Las medidas de los niveles de la Enolasa neuron específica es gamma gamma en pacientes con neuroblastoma, proporcionan información sobre la extensión de la enfermedad y pronóstico del paciente así como la evolución del tratamiento.

#### OBJETIVO:

Establecer valores normales de la NSE en niños en diferentes etapa de crecimiento con el fin de que los niveles de este marcador nos sirvan para diagnóstico, monitorización del tratamiento y evaluación del neuroblastoma infantil.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se han tomado 151 niños repartidos en grupos: de 0-1 años 13 niños; de >1-12 años 117 niños; de >12-14 años 21 niños. Grupo control 26 adultos sanos en edades comprendidas entre 26-46 años.

Las muestras se procesaron en un COBAS e 411 de Roche Diagnósticos, El método utilizado es Electroquimioluminiscencia El análisis estadístico se ha realizado mediante el programa SPSS 15.0

#### RESULTADOS:

Las poblaciones infantiles tienen una distribución normal NSE (Kolmogorov-Smirnov). Hemos establecido medias con desviación típica y medianas con percentiles (P5-95) para los 4 grupos. También hemos realizado T para la comparación de medias y vemos que exceptuando los niños de 0-1 año frente a los 1-12, los demás tienen diferencias significativas  $P<0.050$ .

PRUEBA T PARA COMPARACION DE MEDIAS				
Edad	0-1 año	1-12 años	12-14 años	adultos
0-1 año		Dm 2.52	Dm 7.24	Dm 17.12
1-12 años	Dm 2.52	Sig 0.06	Sig 0.00	Sig 0.00
12-14 años	Sig 0.00	0.227	0.003	0.00
adultos	0.00		Dm 4.73	Dm
	Dm 7.24	Dm 4.73	Sig 0.00	Sig 0.00
	Sig 0.00	Sig 0.00	0.00	0.00
	0.00	0.00		Dm 9.88
	Dm 17.12	Dm 14.6	Dm 9.88	Sig 0.00
	Sig 0.00	Sig 0.00	Sig 0.00	0.00
	0.00	0.00	0.00	

EDAD	N	MEDIA	DESV.TIP.	MEDIANA	P5	P95
<b>0-1</b>	13	22.31 ng	7.01	21.24 ng	14.10	38.70
<b>1-12</b>	117	19.80 ng	4.19	19.73 ng	13.09	27.09
<b>12-14</b>	21	15.07 ng	3.60	19.73 ng	8.00	22.02
<b>ADULTOS</b>	50	5.19 ng	2.95	4.44 ng	1.12	11.07

#### CONCLUSIONES:

Los valores obtenidos en los niños son muy diferentes a los adultos, incluso muy diferentes dependiendo de la etapa de crecimiento y consideramos necesario establecer los límites de normalidad en cada etapa de la infancia debido a la trascendencia que la alteración de este parámetro tiene para los niños enfermos de neuroblastoma.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 230**

#### VALORACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE LA LEPTINA)

*Autor/a/s: PAULA ROMERO GARCIA, CONSUELO BOYERO SIERRA, FELICIDAD MARTIN ANDRES, MELANIA HERNANDEZ BENITO, PIEDAD MATAS LLORENTE, CARMEN CASADO HERNANDEZ, FERNANDO MARQUES GARCIA\*, MARIA LUISA HERNANDEZ CERCEÑO\*\**

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA*

*Localidad: SALAMANCA*

*Correo electrónico del primer firmante: parogar\_12@hotmail.com*

#### INTRODUCCIÓN:

La Leptina es una hormona proteica compuesta de 167 aminoácidos y codificada por el gen ob. Su síntesis ocurre principalmente en el tejido adiposo, aunque también en los ovarios y placenta.

Durante el embarazo es secretada a la circulación materna por lo que su concentración se eleva sobre todo en el segundo y tercer trimestre. La leptina placentaria podría participar en la regulación del metabolismo energético y de las demás reservas lipídicas.

#### OBJETIVO:

Valorar del comportamiento de la leptina durante el primer y segundo trimestre del embarazo en mujeres de peso normal, bajo y sobrepeso, y establecer los niveles normales en suero debido a que hemos observado que niveles elevados en el embarazo tienden a producir obesidad mórbida en el futuro.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

En una población de 162 mujeres embarazadas y se determinó a las 10 semanas el peso y la leptina (lep 1), y a la 20 semana se volvió a determinar la leptina (lep 2). Se determinaron por enzimoimmunoanálisis de Mediagnost y distribuido por VITRO Diagnostic. Se utiliza el método estadístico SPSS 15.0.

## RESULTADOS:

Hemos aplicado el test Kolmogorov-Smirnov, nos encontramos con una población no normal tanto para el peso como la leptina

CAT	PESO GESTANTS	N	MEDIAN PESO	INTER-VAL	MEDIANA LEPTINA PRIMER	INTER-VALO	MEDIANA LEPTINA SEGUND	INTER-VALO
I	<50KG BAJO	12	48 Kg	47-50	10.25 mg/ml	8.38-19.58	16.45 mg/ml	9.03-28.43
II	50-70KG NORMAL	120	59 Kg	55-64	17 mg/ml	11.93-24.3	22 mg/ml	14.9-33.98
III	>70 KG SOBREPESO	30	76 Kg	72-85	35.15 mg/ml	25.3-62.85	60.95 mg/ml	26.58-73.1

Aplicando la correlación de Pearson: en las mujeres de la categoría I no existen correlaciones significativas ni entre el peso, ni la leptina 1 y la leptina 2 ( $P > 0.050$ ).

Para la categoría II si hay una correlación significativa entre el peso y la leptina 1 y 2 ( $P < 0.000$ ) y también entre la leptina 1 y 2.

En la categoría III hay correlación con significación más baja del peso con la leptina 1 ( $P < 0.010$ ), mientras que con la leptina 2 la  $P < 0.019$ , la leptina 1 y 2 tienen buena correlación con una ( $P < 0.000$ ) y ésta es la mayor correlación que encontramos siendo del 67%.<sup>j</sup>

## CONCLUSIONES:

El comportamiento de la leptina durante el embarazo varía mucho dependiendo del peso inicial de la gestante se encuentre dentro de los límites normales de peso. Por lo que para establecer los rangos normales de leptina dentro de la gestación utilizaremos el grupo II; leptina primer trimestre (11.93-24.3) y segundo trimestre (14.9-33.98)mg/ml.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 231**

## ESTUDIO COMPARATIVO DE LA DETERMINACIÓN DE 25-OH VITAMINA D EN TRES AUTOANALIZADORES DIFERENTES

*Autor/a/s: MERCEDES FERNANDEZ MARTINEZ, FELICIDAD MARTIN ANDRES, ROSA AGUADERO MARTIN, SOFIA GONZALEZ MARTIN, CARMEN CASADO HERNANDEZ, FERNANDO MARQUES GARCIA\*, MARIA LUISA HERNANDEZ CERCEÑO\*\**

*Centro de trabajo: HOSPITAL CLINICO*

*Localidad: SALAMANCA*

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

## INTRODUCCIÓN:

La 25-OH Vitamina D juega un papel fundamental en la homeostasis del calcio y del fósforo, y su insuficiencia se encuentra también relacionada con diabetes, diferentes tipos de cáncer, trastornos cardiovasculares, enfermedades autoinmunes etc.

Las dos formas más importantes son vitamina D3 (colecalciferol) y vitD2 (ergocalciferol) que tienen su origen en la luz solar y en la alimentación respectivamente.

## OBJETIVO:

Comparar los resultados obtenidos en la cuantificación de la 25 OH vit D por tres sistemas diferentes de inmunoanálisis.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se han estudiado 81 pacientes en tres analizadores diferentes: Cobas e 411 (ROCHE) que utiliza electro quimioluminiscencia, LIAISON (DiasSorin) con un método de quimioluminiscencia y un método de enzimoimmunoensayo ELISA, EUROIMMUN distribuido por ANALISIS Y GENÉTICA S.L.

Se ha aplicado el programa estadístico SPSS 15.0 y Med Calc., este último para la ecuación de regresión.

## RESULTADOS:

Se realizaron pruebas de normalidad Kolmogorov-Smirnov resultando una población de comportamiento normal para los tres métodos de valoración de la vit D. calculamos las medias y desviación típica de cada ensayo resultando una media de 18.76 ng/ml (desv. típica 10.58) para la vit D de LIAISON, de 20.24 ng/ml (desv. típica 12.46) para la de COBAS y 20.29 ng/ml (desv. típica 10.15) por el ELISA.

Calculamos las ecuaciones de regresión y los coeficientes R<sup>2</sup>

Para COBAS vs LIAISON obtenemos un R<sup>2</sup> = 0.8337 y una ecuación de  $y = 0.5080 + 1.0758x$  tomando los resultados de COBAS como variable dependiente "y" y los resultados de vit D en LIAISON como variable independiente x.

Para COBAS vs ELISA tomando este último como variable independiente x obtenemos un R<sup>2</sup> = 0.7861 y una ecuación  $y = -1.8388 + 1.0882x$ .

Para LIAISON vs ELISA tomando este último como variable independiente x obtenemos un R<sup>2</sup> = 0.7247 y una ecuación  $y = 0.7739 + 0.88868x$ .

## CONCLUSIÓN:

Aunque los tres métodos son inmunoanálisis y a pesar de encontrar medias y desviaciones típicas similares estos tres métodos presentan un coeficiente de regresión muy alejado de R<sup>2</sup> = 1, por lo que los valores no son intercambiables ni se pueden ajustar usando un factor

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 232**

## INFLUENCIA DE LA IMPLANTACIÓN DE LA PETICIÓN ELECTRÓNICA EN LAS INCIDENCIAS DE PREENÁLISIS

*Autor/a/s: SEIJAS SANTAMARIÑA, MARÍA; GONZALEZ RIEIRO, ISABEL*

*Centro de trabajo: Hospital Materno Infantil Teresa Herrera*

*Localidad: A coruña*

*Correo electrónico del primer firmante: maria.seijas.santamarina@sergas.es*

## INTRODUCCIÓN:

Estudio comparativo de las Incidencias de Preenálisis, antes y después de la implantación de la Petición Electrónica en el Laboratorio.

## OBJETIVOS:

Demostrar que la Petición Electrónica de Laboratorio es beneficiosa para evitar algunas de las incidencias de preanálisis relacionadas con la no recepción de las muestras. Ya que en ella se detallan todos los tubos que se deben extraer, que contenedores usaremos para cada determinación, se dan instrucciones de recogida de muestras y otras condiciones.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Datos de incidencias preanalíticas extraídos del Sistema Informático de Laboratorio (SIL) recogidos en los años 2012 y 2013

Estos datos han sido procesados mediante programa Excel 2010.

## RESULTADOS Y CONCLUSIONES:

Al introducir en el trabajo de rutina la Petición Electrónica de Laboratorio se observa que algunas incidencias aumentaron. Ejemplos de esto son: la falta de tubo EDTA para Inmunología (29% de coeficiente de variación) y la falta de tubo para Crioglobulinas (100%). Así mismo se observa que han disminuido otras incidencias de preanálisis relacionadas con muestras no recibidas. Muestras no recibidas de Hematimetría (-13%), Coagulación (-6%), Bioquímica-Hormonas-Inmunología (-15%), Hemoglobinas Glicosiladas (-39%), Test de O'Sullivan (-36%), Poblaciones Linfocitarias (-26%), Servicio de Transfusión (-14%), Serología (-11%), ACTH (-60%) y Urianálisis (-4%).

Quedando así demostrado que la Petición Electrónica de Laboratorio es beneficiosa para la preanalítica, ya que disminuyen las incidencias de preanálisis relacionadas con muestras no recibidas.

Número: 233

**UTILIDAD DE LA DETECCIÓN DE TIROGLOBULINA EN EL ASPIRADO DE PUNCIÓN GANGLIONAR CERVICAL**

Autor/a/s: PILAR GUILLEN ESTEBAN, GLORIA MOLINA SANTAMARIA, PILAR ESTUDILLO ESTEBAN M. ISABEL BARCONES JIMENEZ, M. LUISA CANO GONZALEZ, M. ANGELES DUEÑAS BAREA, ISABEL SANCHEZ DONOIRE.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO MOSTOLES

Localidad: MOSTOLES (MADRID)

Correo electrónico del primer firmante: brevas2@hotmail.com

**INTRODUCCIÓN:**

Hasta un 20% de los pacientes con cáncer diferenciado del tiroides (CDT) desarrollan recurrencias locoregionales, principalmente ganglionares, el 70% se presentan durante los 5 primeros años del tratamiento.

La determinación de tiroglobulina en suero (Tg) en ausencia de anticuerpo anti-tiroglobulina es considerado el marcador más sensible y específico para la evaluación del CDT. Un valor de Tg elevado se asocia a la presencia de tejido tiroideo residual o metastásico, siendo la adenopatía cervical el principal sitio de recurrencia del CDT. La demostración de metástasis ganglionares es indispensable para decidir una cirugía más radical, pero los métodos diagnósticos actualmente disponibles no siempre son suficientemente sensibles.

Aunque la citología por punción con aguja fina guiada por ecografía (PAAF-eco) es una herramienta esencial en la detección de metástasis ganglionares, tiene hasta un 22% de falsos negativos, cifra que se eleva a 38% en presencia de cambios quísticos.

Por esto en diversos estudios se ha evaluado la determinación de tiroglobulina en líquido de lavado de aguja de punción (Tg-PAAF), con resultados de sensibilidad y especificidad cercanos al 100% sin que resulte afectada por los anticuerpos anti-tiroglobulina.

**OBJETIVO:**

Comparar la sensibilidad de Tg-PAAF obtenida mediante PAAF-eco en adenopatías cervicales de pacientes con sospecha de recidiva con la citología y evaluar su utilidad.

**MATERIAL Y MÉTODOS:**

Estudiamos 14 pacientes con sospecha de metástasis ganglionares de CDT: 7 con tiroidectomía total. 9 son mujeres y 5 hombres, con una media de edad de 51 años, rango de 22 a 71 años

**RESULTADOS:**

De 14 pacientes que se sometieron a eco-PAAF por presentar adenopatía sospechosa, 5 resultados positivos para Tg-PAAF.

Los 5 casos positivos se confirmaron posteriormente por cirugía

En dos casos de estos cinco, no hubo material suficiente para analizar en anatomía patológica,

Los otros nueve casos fueron negativos para Tg-PAAF y para citología.

Los anticuerpos anti-Tg fueron negativos en todos los casos.

Considerando los 5 pacientes confirmados quirúrgicamente la sensibilidad para Tg-PAAF fue del 100% y para la citología de 60%

El seguimiento de los pacientes que no fueron a cirugía se ha realizado con determinación semestral de Tg en suero, anticuerpo anti Tg y ecografía, no encontrándose evidencia de recidiva hasta ahora.

**CONCLUSIONES:**

La medición de Tg-PAAF con adenopatía sospechosas, fue más sensible que a citología ganglionar, sobre todo es útil para apoyar cuando el material es escaso para realizar la citología. Además es una técnica fácil de implementar en casi todos los laboratorios.

En nuestro estudio no fue posible calcular la especificidad o valor predictivo negativo del método, pues los pacientes con Tg-PAAF y citología negativas no fueron enviados a cirugía

Número: 240

**AUMENTO DE PROCALCITONINA EN PACIENTES CON PROTEÍNA C REACTIVA ELEVADA**

Autor/a/s: Herrera Rubio, Guadalupe, Mateos Lérida Ana Rosa, García García de la Parra, Cristina, Luján García, María Isabel, Gómez-Serranillos Reus, Manuel.

Centro de trabajo: Hospital Virgen de la Salud

Localidad: Toledo

Correo electrónico del primer firmante: pupeher@hotmail.es

**INTRODUCCIÓN:**

La procalcitonina es la prohormona de la calcitonina que se eleva rápidamente en los pacientes con infección bacteriana grave en ausencia del aumento de la hormona calcitonina.

La proteína C reactiva es una proteína de fase aguda, es un buen marcador de infección bacteriana leve.

**OBJETIVOS:**

Relacionar la proteína C reactiva y la procalcitonina en procesos inflamatorios y/o infecciosos de carácter vírico y/o bacteriano.

**MATERIAL Y MÉTODOS:**

-Proteína C reactiva: Técnica de inmunoensayo enzimático heterogéneo en sándwich en VITROS 5600 de Ortho-Chnical Diagnostics.

Sus valores normales: 0.0-8.0 mg/l.

-Procalcitonina: Técnica de Inmunoensayo de electroluminiscencia en COBAS e411 de ROCHE.

Sus valores normales: <0.5 ng/ml bajo riesgo sepsis

>2.0 ng/ml alto riesgo sepsis

**RESULTADOS:**

El estudio se realizó en el Complejo Hospitalario de Toledo durante el mes de octubre de 2013. Se estudiaron un total de 2792 muestras que les pedía la proteína C reactiva, 516 (18,48%) daban resultados mayor de 90mg/l. De éstas 516 muestras, a 180 le pedían procalcitonina (34,88%), y de éstas 180 muestras con procalcitonina, 53 su valor era elevado (29,44%).

**CONCLUSIONES:**

Con la totalidad de muestras estudiadas se observa que la proteína C reactiva aumenta en muchas más muestras que la procalcitonina, de lo que se deduce que la proteína C reactiva es más sensible y menos específica a pesar de que su cinética es más lenta.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 241

**ESTUDIO COMPARATIVO DE DOS MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS TOTALES EN ORINA: TURBIDIMÉTRICO (COBAS 6000, ROCHE DIAGNÓSTICO) Y COLORIMÉTRICO EN TIRA REACTIVA (ICHEM VELOCITY, IZASA)**

Autor/a/s: Lamela Berengeno, María Isabel; Torres Rodríguez, Francisca; Fernández Valverde, María Luisa.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN MACARENA

Localidad: SEVILLA

Correo electrónico del primer firmante: isabel.lamela@hotmail.es

**INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS:**

En el departamento de Bioquímica de nuestro Hospital la determinación de proteínas totales en orina se realiza por turbidimetría, método cuantitativo, en analizador Cobas 6000 (Roche Diagnósticos). Ante la adquisición de una nueva tecnología, Ichem@Velocity de la cadena IrisCell (IZASA), que realiza la medida por método colorimétrico mediante tira reactiva, método semicuantitativo, nos proponemos comparar los resultados obtenidos por ambos métodos

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Las proteínas totales se miden en muestras de orina de primera hora de la mañana elegidas al azar y procedentes de distintos ámbitos, hospitalizados, consultas externas especializadas y atención primaria. La medición se realiza en los analizadores: Cobas 6000 e Ichem® Velocity, este último por tira reactiva. Se procesan 64 muestra, según el protocolo EP9-A2 del NCCLS, por duplicado y manteniendo un orden inverso entre las tandas para minimizar el efecto de arrastre. El control de calidad se realiza al inicio y al final de cada serie de muestras, tras haber sido procesadas en el orden inverso. El tiempo para procesar las muestras entre analizadores no superaron las 3 horas.

Los resultados obtenidos por turbidimetría en el analizador Cobas 6000 se expresan en mg/dl. Los del analizador Ichem® Velocity por tira reactiva son: 0 mg/dl (no presencia de proteínas), 10 mg/dl (detección traza), 50 mg/dl (+), 100 mg/dl (++) , 300 mg/dl (+++) y > 600 mg/dl (++++). De las 64 muestras procesadas ninguna obtuvo un valor de proteínas mayor de 600 mg/dl.

En el análisis estadístico se calcularon la media y la desviación típica del conjunto de datos obtenidos por cada analizador, correlación de Pearson, Rho de Spearman y el coeficiente de correlación intraclase

## RESULTADOS:

La media de los datos obtenidos por en analizador Cobas6000 fue de 36,4, con una desviación típica de 94,8. La media de los del analizador Ichem® Velocity fue de 32,5 con desviación típica de 56,7. La correlación (regresión lineal) de Pearson fue de 0,946. La correlación Rho de Spearman de 0,743 y el coeficiente de correlación intraclase de 0,910

## CONCLUSIÓN:

Los resultados del coeficiente de correlación de Pearson y Rho de Spearman permiten concluir que los datos obtenidos por el analizador Ichem® Velocity y los del analizador Cobas 6000 presentan una buena correlación. El resultado del coeficiente de correlación intraclase nos indica que existe concordancia entre los dos métodos

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 247**

### ANÁLISIS DE LA CONCORDANCIA DE LA LECTURA DEL SEDIMENTO URINARIO ENTRE UN SISTEMA AUTOMÁTICO (SEDIMAX) Y EL ESTUDIO MEDIANTE MICROSCOPIA ÓPTICA POR UN TEL

*Autor/a/s: María Isabel García Sánchez, María Dolores Olivo Ros*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario Santa Lucía*

*Localidad: Cartagena*

*Correo electrónico del primer firmante: maribel-72@hotmail.es*

## INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS:

El elevado número de muestras de orinas procesadas actualmente en un laboratorio de Análisis Clínicos ha obligado al desarrollo de tecnologías automatizadas que permita un cribado inicial de la muestra y el posterior estudio del sedimento urinario en base a la aparición de alarmas, previamente definidas, en la tira reactiva. Sin embargo en nuestro hospital el análisis del sedimento urinario en las muestras procesadas por prioridad urgente sigue realizándose mediante la observación del sedimento obtenido por centrifugación de la orina por microscopía óptica, responsabilidad que recae en los técnicos especialistas de laboratorio (TEL) bajo la supervisión del personal facultativo especialista, que debe ser capaz de identificar posibles necesidades formativas que garanticen una lectura correcta del sedimento, prueba fundamental en el diagnóstico de patologías tanto renales como de otro tipo (ITU, PNA, etc). En este estudio hemos evaluado la concordancia en la lectura del sedimento realizado mediante análisis microscópico por un TEL y un sistema automatizado de lectura, basado en la toma e interpretación de imágenes de la orina (SEDIMAX (Menarini Diagnostic)

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Para el estudio se seleccionaron muestras de orina que presentaron una alarma en la lectura de la tira reactiva, en el analizador Atlas (Siemens Healthcare) que obligara a la observación del sedimento urinario. Se establecieron tres alarmas: positividad para esterasa leucocitaria (como alarma de detección de la presencia de leucocitos), para la actividad peroxidásica de la hemoglobina (como alarma de detección de la presencia de hemáties) y presencia de nitritos (como alarma

para la detección de bacterias). Además se incluyeron orinas en las que se detectó mediante la lectura automatizada la presencia de levaduras. Para la comparación se categorizaron las variables recuento de leucocitos/campo y de hemáties/campo (0-3, 3-10, 10-30, 30-60, 60-100 y > 100) y de levaduras y bacterias (presencia abundante, moderada y escasa)

## Métodos:

Como método de referencia para la lectura del sedimento urinario se empleó el analizador SEDIMAX (Menarini Diagnostic) basado en la interpretación de imágenes

El estudio del sedimento urinario se basó en el examen microscópico por un TEL de al menos 40 campos (40\*) con un microscopio óptico de campo claro

Análisis estadístico: se evaluó la concordancia en la lectura entre ambos métodos mediante el índice de concordancia kappa usando el programa estadístico EPIDAT 3.1

## RESULTADOS:

Variable	n	Índice kappa
Recuento de leucocitos/campo	54	0,76
Recuento de hemáties/campo	50	0,82
Bacterias	32	0,80
Levaduras	14	0,82

## CONCLUSIONES:

Para todas las variables analizadas la concordancia fue buena, de acuerdo a los criterios de Altman (Practical statistics for medical research. New York: Chapman and Hall; 1991).

Como parte del manual de calidad de nuestro laboratorio se incluye la demostración de la competencia en el estudio del sedimento urinario como uno de los requisitos para el desarrollo de la actividad en el Laboratorio de Urgencias, siendo la comparación con el método automatizado empleado en el área de bioquímica programada una herramienta a considerar para verificar dicha competencia y detectar necesidades formativas del personal TEL del Laboratorio de Urgencias.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 249**

### COMPARACIÓN DE LA PROTEÍNA S-100 Y LDH EN PACIENTES CON MELANOMA.

*Autor/a/s: MORALES AGUILERA MERCEDES; DE BRINGAS POSADILLO ESPERANZA; GIL MACIAS CELIA; ZOPEQUE GARCÍA NURIA; RIOS QUESADA CATALINA*

*Centro de trabajo: H.U. PUERTA DEL MAR*

*Localidad: CÁDIZ*

*Correo electrónico del primer firmante: mercedesmorales77@yahoo.es*

## INTRODUCCIÓN:

La proteína S100 se expresa en células de origen neuroectodérmico. Existen dos subunidades (alfa y beta) que se organizan en monómeros o dímeros. El dímero S100A1B se localiza en células gliales y en melanocitos.

S100-A1B es un marcador tumoral utilizado en el melanoma, que se ha relacionado con el estadio del tumor, pronóstico, metástasis y respuesta al tratamiento. Hasta su incorporación a la clínica ha sido la LDH el marcador utilizado para el seguimiento y pronóstico de esta enfermedad.

Se ha visto que es un marcador de progresión tardía, no válido cuando la enfermedad está confinada a los nódulos linfáticos, por lo que solo se eleva en estadios avanzados del melanoma (III, IV).

## OBJETIVO:

Determinar los niveles de S100 y LDH en pacientes diagnosticados de melanoma para valorar si se encuentran elevados y comparar su positividad en distintos estadios.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Población de estudio: 145 pacientes procedentes de la Unidad de Gestión de Dermatología durante el año 2013, con diagnóstico de melanoma. Se excluyeron los sueros hemolizados, obteniendo una muestra final de 131 pacientes.

Métodos: se determinó S100 por electroquimioluminiscencia en el Cobas6000 (Roche Diagnostics®) y la LDH en el COBAS 711 por técnicas enzimáticas colorimétricas. Los valores fueron positivos cuando superaron el nivel de 214 U/L para LDH y de 0,2 ng/ml para S100.

Estudio estadístico: se analizó la normalidad de las variables mediante el test de Kolmogorov-Smirnov, se estudió la correlación, se comparó la positividad de ambas por tablas de contingencia 2x2 y se midió la concordancia a través del índice Kappa de Cohen. Para el estudio se utilizó el paquete estadístico SPSS 15,0 y se asumió un nivel de significación estadística del 0,05%.

#### RESULTADOS:

Ninguna variable tuvo una distribución normal (LDH; P=0.0023, S100: P<0.0001).

La LDH fue negativa un 96.2 %, la S100 un 95.4 % y las dos juntas fueron negativas un 92.3 % de los casos.

La correlación entre ellas fue significativa  $p<0.001$ . Índice Rho de Spearman 0.429 con un intervalo de confianza de (0.276-0.561)

El grado de concordancia con índice Kappa, que fue de 0.146, IC (-0.169- 0.461) que indica una fuerza de concordancia pobre.

#### CONCLUSIONES:

A pesar de que la correlación es positiva, existe una concordancia débil entre la LDH y S100 en pacientes diagnosticados de melanoma. Puede ser debido a que la LDH es muy inespecífica ya que se altera en múltiples procesos como en sueros hemolizados o en patologías hepáticas o cardíacas, y no fueron excluidos del estudio.

Tanto la LDH como la S100 son marcadores que se utilizan para el seguimiento del melanoma, aún así en la mayoría de los pacientes ambas son negativas, una causa atribuible podría ser a que en el estudio se incluyen pacientes en todos los estadios y pacientes tratados o sin tratar, por lo que habría que clasificar mejor a estos pacientes para refinar el estudio.

En estudios futuros se deberían excluir pacientes con patologías cardíacas y hepáticas y clasificar a los pacientes en función del estadio para optimizar el uso de estas pruebas diagnósticas.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 256**

#### MONITORIZACIÓN DE METOTREXATE EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS.

*Autor/a/s: Domínguez Alonso, Laura, Luján García, María Isabel, García García, Cristina, Oliván Esteban, Raquel, Palma Fernández, Rocío, Gómez - Serranillos Reus, Manuel.*

*Centro de trabajo: Hospital Virgen de la Salud*

*Localidad: Toledo*

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

#### INTRODUCCIÓN:

El Metotrexate se usa como componente en quimioterapias para el tratamiento de ciertas neoplasias hematológicas (Linfoma No Hodgkin, Leucemias agudas...).

Su determinación en el laboratorio de Urgencias ayuda a la monitorización de dicho fármaco quimioterapéutico, para saber en qué momento se debe comenzar el rescate con Leucovorina, fármaco que se usa para prevenir los efectos perjudiciales del Metotrexate en caso de altas dosis.

#### OBJETIVOS:

Describir el protocolo de monitorización sérica de Metotrexate en pacientes hematológicos y establecer los valores esperados tras un tiempo de respuesta tras su administración.

#### MATERIALES Y MÉTODOS:

- TDX de Abbott Diagnostics, autoanalizador que determina los niveles de Metotrexate en suero mediante inmunofluorescencia polarizada.

#### RESULTADOS:

Se determinaron los niveles de Metotrexate en 3 muestras de suero del paciente tras su tratamiento quimioterapéutico, extraídas 24, 48 y 72 horas después de la administración.

La determinación de los niveles esperados de Metotrexate en suero, son los siguientes:

- A las 24 horas tras su administración, valores menores a 50 mcmol/L

- A las 48 horas tras su administración, valores menores a 0,50 mcmol/L

- A las 72 horas tras su administración, valores menores a 0,20 mcmol/L

#### CONCLUSIONES:

Hemos concluido que realizando la determinación de Metotrexate en el Laboratorio de Urgencias, se consigue una monitorización de dicho fármaco dentro de los niveles esperados y una respuesta más rápida en caso de sobredosificación y tener que realizar un rescate con Leucovorina.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 258**

#### FORMACIÓN DE BLASTOCISTOS VIABLES EN EMBRIONES DE OBSERVACIÓN EN FUNCIÓN DE ESPERMATOZOIDES SELECCIONADOS CON ANEXINA V

*Autor/a/s: Becerra Fernández Diego, Fernández Sanz Jesús, Alonso Nieto Manuela, Rodríguez Fernández Adela, Agudo Garcillan David, Bronet Campos Fernando.*

*Centro de trabajo: IVI MADRID*

*Localidad: ARAVACA*

*Correo electrónico del primer firmante: diego.becerra@ivi.es*

#### INTRODUCCIÓN:

Las técnicas de capacitación espermática empleadas habitualmente en los tratamientos de reproducción están basadas en la selección de espermatozoides móviles. Hoy en día está ampliamente demostrado que la integridad del ADN espermático también puede influir en la infertilidad masculina y que es de gran importancia en el inicio y mantenimiento de un embarazo viable, tanto en reproducción asistida como en concepción natural. La fragmentación del ADN espermático puede variar en distintos eyaculados de un mismo paciente y además aumenta considerablemente cuando la muestra se somete a un proceso de congelación/descongelación previo a su utilización en tratamientos de reproducción.

#### OBJETIVOS:

Nuestro objetivo es determinar si la utilización de la técnica de selección de espermatozoides mediante la reacción a Anexina V, en sémenes congelados, influye en el desarrollo de blastocistos viables en embriones que en D3 de desarrollo han sido dejados en observación y comprobar la capacidad de formación de blastocistos viables en dichos embriones.

#### MATERIALES Y MÉTODOS:

En el estudio se incluyen 99 parejas, de tratamientos de ovodonación (para normalizar el factor femenino en todos los casos de estudio) y todas ellas con semen congelado. Se dividen en dos grupos al azar. El primer grupo (control) está formado por 48 parejas en las que se realiza la capacitación seminal mediante gradientes de densidad (puresperm) o swing up. El segundo grupo (anexina V) que tras capacitar el semen por las mismas técnicas se eluye el capacitado en columnas de anexina.

Del grupo control se obtienen 343 embriones, de los cuales 90 de ellos son dejados en observación y se congelan 29. Del grupo Anexina V se obtienen 338 embriones de los cuales 86 de ellos son dejados en observación y se congelan 37. Se quiere comparar el porcentaje de blastocistos viables obtenidos de los embriones dejados en observación en D3 de desarrollo de ambos grupos.

#### RESULTADOS:

Grupos	Nº de embriones observación	Nº de Blastocistos viables	Porcentaje de Blastocistos viables (%)
Control	90	29	32,22
Anexina V	86	37	43,02

Aunque se aprecia una mejor tasa de blastocisto viable en los casos en los que se empleó la anexina, las diferencias no resultan significativas ( $p=0.1390$ ).

**CONCLUSIONES:**

El empleo de anexina V parece tener un efecto beneficioso en el desarrollo embrionario. Aunque las diferencias no resultan significativas entre ambos grupos de estudio, parece haber una tendencia, por lo que sería necesario ampliar el grupo de estudio para confirmar o descartar esta tendencia.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 259

**COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS DE MEDIDA DE ASLO**

*Autor/a/s:* Herrero Berrocal, María; Hernández Álvarez, Elena; Martínez Chincolla, Carolina; Lurva Galán, Alexandra; Elorza Méndez, Silvia; Arribas Herrero, Beatriz.

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

*Localidad:* Majadahonda (MADRID)

*Correo electrónico del primer firmante:* mariahb26@hotmail.com

**RESUMEN:**

El *Streptococcus pyogenes* causa una amplia variedad de infecciones en las vías respiratorias altas. Y otras de las manifestaciones de infección por dicha bacteria incluyen glomerulonefritis, fiebre reumática, endocarditis bacteriana y escarlatina.

El título de ASLO es la medición de anticuerpos anti-estreptococo beta hemolítico del tipo A. Esta bacteria produce una enzima llamada estreptolisina O que puede destruir los hematíes, por lo que el organismo reacciona contra ella produciendo anticuerpos específicos antiestreptolisina O.

Los anticuerpos aparecen una semana después de la infección. El título se eleva rápidamente a las tres-cuatro semanas y después disminuye, pudiendo seguir elevado en el tiempo.

**OBJETIVO:**

Comparar los resultados obtenidos en la determinación de ASLO mediante los métodos de turbidimetría y nefelometría.

**MATERIALES Y MÉTODOS:**

**SUJETOS DE ESTUDIO:** Se recogieron 51 muestras de pacientes a los cuales se les solicitó la determinación de ASLO. Cada muestra se realizó por ambos métodos.

**EQUIPOS:**

- Advia 2400: Inmunoturbidimetría potenciada con látex (Siemens Health Care Diagnostics)

- Dimension Vista 500: Nefelometría (Siemens Health Care Diagnostics)

**ANÁLISIS DE DATOS:** Se realizó un estudio de correlación y regresión simple y un estudio de concordancia con el método de Bland-Altman. Se utilizó el programa informático Med Calc v 11.2.1.

**RESULTADOS:**

La correlación existente entre ambas mediciones ( $r=0.9637$ ;  $p<0.001$ ) objetiva una asociación positiva y lineal.

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 media. La media de las diferencias, correspondientes a los valores de ASLO determinados en el ADVIA menos los valores determinados por el VISTA, es -39.95. Las diferencias presentan una distribución homogénea a lo largo del eje de abscisas. Los límites de confianza al 95% para esta diferencia están entre -67.1004 y -12.8016 y los límites de concordancia están entre la media  $\pm 2$  desviaciones estándar, es decir, -39.95  $\pm$  193.06 (153.11 y -233.01).

Teniendo en cuenta el punto de corte 240, límite superior de intervalo de referencia para la población sana, ambos métodos clasifican igual salvo a 3 pacientes.

**CONCLUSIONES:**

En vista de los resultados obtenidos se considera que los métodos son intercambiables. Y por tanto no sería necesario establecer nuevos intervalos de referencia para ASLO.

Número: 262

**VALORES CRÍTICOS EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS: RECONOCIMIENTO Y COMUNICACIÓN.**

*Autor/a/s:* MILAGROS MÁRQUEZ GALAN, ANA CALVENTE PEREZ, MARIA DEL CARMEN ASTORGA PERALTA, CATALINA RIOS QUESADA, FELISA MAGARIÑO CAPITAN

*Centro de trabajo:* HOSPITAL UNIVERSITARIO DE PUERTA DEL MAR

*Localidad:* CADIZ

*Dirección del primer firmante:* CALLE AMARGURA, TRES, CUARTO B,

*Localidad:* SAN FERNANDO

*Provincia:* CADIZ

*Correo electrónico del primer firmante:* tomarimi\_isla59@ono.com

**INTRODUCCIÓN:**

¿Qué es un valor crítico?

Aquel resultado tanto urgente como de rutina que puede indicar una INTERVENCIÓN CLÍNICA inmediata.

Ha de ser evaluado por el profesional de laboratorio que lo visualiza ya que sus conocimientos son los que serán capaces de distinguir entre un valor afecto por errores analíticos o preanalíticos o un verdadero VALOR CRÍTICO.

Su solicitud e interpretación debe basarse en la historia clínica y en la exploración física del paciente y nunca podrán sustituir un juicio clínico en un paciente de urgencias.

**OBJETIVO:**

Evaluar los valores críticos detectados en el servicio de urgencias del Hospital Universitario "Puerta del Mar"

Durante dos meses, y valorar los parámetros que se informan, para evitar posibles alteraciones que puedan amenazar la vida del paciente.

**MATERIALES Y MÉTODOS:**

Se recogieron los parámetros críticos que llegaron al laboratorio de urgencias durante Enero y Febrero del 2014.

Las muestras extraídas se obtuvieron por punción venosa a pacientes atendidos en el servicio de urgencias del Hospital Puerta del Mar.

Se realizaron las determinaciones a partir de suero y sangre total EDTA y Gasometría.

Los valores críticos se informaron al clínico cuando no existe un histórico previo.

Se comunicó telefónicamente de inmediato, incluso antes de esperar el resultado de la repetición.

Según juicio clínico Se comprobaron y en algunos casos se ampliaron pruebas. Se registró la incidencia, activando la prueba de VALOR CRÍTICO, dejando constancia de la persona que hace la comunicación y a quién se ha comunicado.

**RESULTADOS:**

De las muestras pertenecientes a los pacientes asistidos con carácter urgente se obtienen los siguientes resultados.

- 58% de Hemoglobina (Hb) < a 7g/dl o > a 20 g/dl.

- 18% de Glucosa < a 30 mg/dl o >360 mg/dl (como primer valor).

- 14% de Plaquetas < a 20.000 (niños) o 40.000 (adultos).

- 10% de LDH > a 480 U/l

- 6% de Gasometría pH < a 7.1 o >7.5 / Bicarbonato < a 10 mEq/l o superior a 40.

**CONCLUSIONES:**

Los valores de Hb y Glucosa, son los que con mayor frecuencia alcanzan cifras críticas en los pacientes que llegan al laboratorio de urgencias.

Debido a la importancia de estos parámetros en la salud del paciente, la comunicación de valores críticos por parte del laboratorio permite tomar decisiones terapéuticas inmediatas y evitar complicaciones posibles que puedan derivar en un riesgo que comprometa la vida del paciente.

## DETECCIÓN PRECOZ DEL ANTÍGENO DE STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE EN URINA MEDIANTE INMUNOENSAYO CROMATOGRÁFICO.

Autor/a/s: SUSANA COLLANTE SANCHEZ, MARIA DE LOS REYES GARCIA SANCHEZ, ANA MARIA POZO PEÑA

Centro de trabajo: S.A.S HOSPITAL LA LINEA

Localidad: LA LINEA DE LA CONCEPCION

Correo electrónico del primer firmante: alesus@gmx.es

### Introducción:

La neumonía es un proceso inflamatorio agudo del parénquima pulmonar localizado o difuso en la mayoría de los casos de origen infeccioso.

El *Streptococcus pneumoniae* o Neumococo, es el agente etiológico más común encontrándose entre el 15 y 80% de los casos de las Neumonías Extrahospitalarias (NEH) y de Neumonías Adquiridas en la Comunidad (NAC).. Además puede ser el responsable de un 10 % de neumonías intrahospitalarias (NIH). Se transmite por vía aérea, transmitiéndose de persona a persona a través de las secreciones respiratorias.

El diagnóstico y tratamiento precoz de la neumonía por Neumococo es fundamental, ya que si no se trata adecuadamente puede causar bacteriemia, meningitis, pericarditis, empiema, púrpura fulminante, endocarditis o artritis con una tasa de mortalidad que puede alcanzar el 30% dependiendo de la bacteriemia, edad y las enfermedades subyacentes.

Existen disponibles en el mercado una gran variedad de técnicas "rápidas" para la detección del *S. pneumoniae* con una gran sensibilidad y especificidad que van a permitir un tratamiento más rápido y eficaz.

El objetivo de este trabajo es describir un caso clínico de neumonía por *S. pneumoniae* diagnosticado de forma precoz mediante la detección del antígeno en orina.

### Material y Método:

Se procesa muestra de orina aislada y se realiza la prueba BinaxNOW, un ensayo rápido inmunocromatográfico de membrana para la detección del antígeno soluble de *S. pneumoniae*.

La prueba se interpreta mediante la presencia o ausencia de 2 líneas detectables visualmente de color rosa a púrpura a los 15 minutos, una para la muestra del paciente y otra como control.

### Resultados:

Caso Clínico; Mujer de 42 años de edad, exfumadora desde hace un año y con antecedentes de asma e hiperreactividad bronquial desde hace años que acude a urgencias por fiebre y disnea de varios días de evolución. Se solicita radiografía de tórax y analítica completa junto con hemocultivo y muestra de orina para detección de Ag. de Neumococo y Legionella.

En radiografía de tórax se evidencia infiltrado intersticial alveolar en lóbulo superior derecho (LSD).

En analítica destaca leucocitosis neutrofilica del 92.7% con 14.2x10<sup>9</sup>/L leucocitos (val.ref: 4.0-10/L), proteína c reactiva (PCR) 119.4mg/L (val.ref:0.0-5.0 mg/L), procalcitonina 22.40 ng/mL (valor compatible con shock séptico), ácido láctico 23 mg/dL ( val.ref: 3-7 mg/dL ).

Se realiza test de detección de Ag. de neumococo en orina siendo el resultado positivo.

En base a los resultados obtenidos y a la evolución tórpida durante su estancia en urgencias se realiza ingreso de la paciente con sospecha diagnóstica de neumonía extrahospitalaria por Neumococo iniciando tratamiento con broncodilatadores, oxígeno y antibióticos de forma empírica.

En hemocultivo se confirma la presencia de *Streptococcus pneumoniae* y se ajusta el tratamiento antibiótico en base al antibiograma.

Transcurridos 8 días tras el ingreso en planta la paciente presenta una clara mejoría de su estado general con buena respuesta terapéutica, por lo que se procede a dar de alta domiciliaria.

### Conclusiones:

La detección del antígeno de *Streptococcus pneumoniae* en orina es una prueba sencilla y rápida que, realizada por el personal técnico del laboratorio de urgencias, ofrece resultados en 15 minutos contribuyendo al diagnóstico precoz de neumonía neumocócica, junto con cultivo bacteriológico y otros métodos diagnósticos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

## CRIBADO AUTOMATIZADO DE SÍFILIS MEDIANTE INMUNOENSAYO QUIMIOLUMINISCENTE EN EL ANALIZADOR LIAISON (DIASORIN).

Autor/a/s: SUSANA COLLANTE SANCHEZ, SUSANA DOMINGUEZ CORDOBA, MARIA DEL MAR GARCIA GONZALEZ

Centro de trabajo: S.A.S HOSPITAL LA LINEA

Localidad: LA LINEA DE LA CONCEPCION

Correo electrónico del primer firmante: alesus@gmx.es

### Introducción:

La sífilis es una enfermedad infecciosa causada por la espiroqueta *Treponema pallidum*. La principal vía de transmisión es por contacto sexual, presentando diversos síntomas aunque es frecuente que pasen desapercibidos por lo que es fundamental disponer de un ensayo serológico sensible y específico como método de cribado sobre todo en embarazadas debido al riesgo que supone de transmisión congénita y para el propio embarazo.

Tradicionalmente el cribado serológico consistía en la realización de test no treponémicos y la confirmación de los casos positivos con una prueba treponémica más específica, aunque, la aparición en los últimos años de analizadores automáticos que realizan pruebas treponémicas por inmunoensayos quimioluminiscentes (CLIA) ha supuesto un cambio en el algoritmo diagnóstico de la sífilis.

Objetivos: Evaluar los resultados obtenidos en nuestro laboratorio en el cribado automatizado de sífilis con el analizador Liaison (Diasorin).

Describir el algoritmo diagnóstico empleado en nuestro laboratorio para el cribado serológico de la sífilis.

### Material y métodos:

Durante los meses de Junio a Diciembre de 2013 se procesaron en nuestro laboratorio 1231 muestras de suero en las que se solicita cribado serológico para sífilis.

Se realiza la detección cualitativa de anticuerpos específicos totales anti-*Treponema pallidum* en el analizador Liaison (Diasorin) mediante CLIA, este ensayo tipo "sándwich" utiliza partículas magnéticas marcadas con antígenos recombinantes de *Treponema pallidum* que fijan los anticuerpos presentes en las muestras de suero.

Las muestras con niveles de anticuerpos *Treponema pallidum* superiores a 1,1 se informan como reactivas, confirmándose posteriormente mediante un segundo test treponémico *Treponema pallidum* Hemagglutination Assay (TPHA syphagen) y una prueba no treponémica, Rapid Plasma Reagin (RPR Carbon) realizando en todos los positivos la titulación por RPR.

### Resultados:

De las 1231 muestras analizadas 815 correspondían a mujeres y 416 a hombres, con un rango de edad comprendido entre los 6 y los 87 años (media de 36.2).

Del total de muestras, 39 se consideraron reactivas con niveles de anticuerpos superiores a 1.1; de las cuales 26 (66%) se confirmaron como positivas mediante TPHA y 13 (34%) se consideran falsos reactivos. De los 26 positivos, 13 (50%) fueron positivas con la prueba no treponémica (RPR) considerándose confirmada la infección en estos pacientes.

### Conclusiones:

El cribado de la sífilis mediante CLIA en el analizador Liaison (Diasorin), es un método rápido y automatizado que permite disminuir los errores analíticos en la interpretación de las pruebas manuales así como ahorrar tiempo del personal técnico del laboratorio.

Recomendamos confirmar los resultados considerados reactivos en el cribado mediante otra prueba treponémica (TPHA) y una prueba no treponémica (RPR).

Número: 001

Número: 011

## EXPERIENCIA EN EL MANEJO DE LA TÉCNICA QF-PCR EN EL DIAGNOSTICO PRENATAL DE ANEUPLOIDIAS

Autor/a/s: ROYO GUALLAR ROSARIO, SANTANATALIA ARRIZABALAGA M<sup>a</sup> YOLANDA, PINA ECHEVARRIA M<sup>a</sup> JOSE, LORENTE MARTINEZ FABIOLA

Centro de trabajo: H.U.Miguel SERVET

Localidad: ZARAGOZA

Correo electrónico del primer firmante: rosarioroyo@hotmail.es

### RESUMEN:

EXPERIENCIA EN EL MANEJO DE LA TÉCNICA QF-PCR EN EL DIAGNOSTICO PRENATAL DE ANEUPLOIDIAS

ROSARIO ROYO GUALLAR YOLANDA SANTANATALIA ARRIZABALAGA, M<sup>a</sup>JOSE PINA ECHEVARRIA FABIOLA LORENTE MARTINEZ. Sección Genética del Servicio Bioquímica Clínica del H.U.M.S. Zaragoza

### INTRODUCCIÓN:

La QF-PCR permite un diagnóstico rápido de los cromosomas 21, 18, 13, X e Y, cuya alteración provoca entre el 70-80 % de las aneuploidías. Esta técnica ofrece la posibilidad de analizar ADN de las células fetales, de la manera más rápida posible, pues se obtienen resultados en 24-48 h, lo que reduce el nivel ansiedad de los padres.

Las muestras de células fetales se obtienen mediante amniocentesis, o mediante biopsia de las vellosidades corioideas.

### OBJETIVOS:

Evaluar los resultados obtenidos por el uso de la técnica QF-PCR en el estudio genético molecular de diagnóstico prenatal de aneuploidías así como las dificultades en el procedimiento de análisis.

### MATERIAL Y METODOLOGIA:

Kit QST\*R plus V2, técnica QF-PCR. La población en estudio son mujeres embarazadas con un índice de cribado prenatal positivo.

Se utiliza producto amplificado por PCR, los cebadores se marcan con un colorante fluorescente que se dirigen a las regiones altamente polimórficas de las secuencias de ADN, estas secuencias se llaman STR. Estudiaremos varios microsatélites en distintas regiones marcadas con unos cromógenos distintos (fam, hex, rox y ned). Se estudian cinco microsatélites del cromosoma 13 y 18, seis del 21, el sexo nos lo dará DXS6803, HPRT Y DXS1187 La zona de la amelogenina y taf (cromosoma 3 que sirve de referencia), nos indicara el sexo del feto.

### RESULTADOS:

Durante todo un año hemos procesado 391 líquidos amnióticos de estos un 96% han sido normales y un 4% patológicos ( un 2% síndrome de Down , 1,7% síndrome de Edwards y un 0,3% triploideas ), 129 vellosidades corionicas , de estas un 90% han sido normales y un 9% patológicas (un 6% síndrome de Down, 1,5% Turner y 1,5% triploideas). El mayor problema que nos hemos encontrado es con la pureza del ADN, dependiendo de la concentración y de la relación entre nucleótidos y proteínas tenemos que realizar unas diluciones del ADN y ha sido laborioso llegar a elaborar unas tablas orientativas efectivas. Es muy importante que el líquido amniótico o las vellosidades coriónicas no estén contaminadas con sangre materna.

### CONCLUSIONES:

Hemos llegado a la conclusión, que es una técnica efectiva en la que se observo para los casos estudiados una buena sensibilidad diagnóstica

## CAMBIO DE PROTOCOLO EN EL CULTIVO DE LIQUIDO AMNIOTICO PARA MEJORA DE LOS RESULTADOS

Autor/a/s: Domínguez Rubio Albina, Lorenzo Viñas Esther, Cardeñoso Infante Cristina

Centro de trabajo: Hospital Universitario Río Hortega

Localidad: Valladolid

Correo electrónico del primer firmante: dominguezalbi@yahoo.es

### RESUMEN:

CAMBIO DE PROTOCOLO EN EL CULTIVO DE LIQUIDO AMNIOTICO PARA MEJORA DE LOS RESULTADOS:

Introducción: el tiempo de cultivo en líquido amniótico para técnicas de citogenética convencional puede llegar a suponer el 80% del tiempo total hasta la emisión del informe, siendo el factor limitante en todo el proceso. El proceso convencional de cultivo en el Hospital Universitario Río Hortega se inicia con la recepción de dos tubos estériles con 10 mL de líquido amniótico, tras su centrifugación se elimina el sobrenadante dejando 1 mL que contiene las células homogeneizadas, se añaden 4 mL de medio de cultivo y se depositan en dos frascos (frasco poliestireno tampón con filtro y boca angulada), ventilados de 25 cm<sup>2</sup>; a los 7 días se procede al cambio de medio de cultivo; aproximadamente entre 3-5 días posteriores se procede a la valoración para el proceso de subcultivo a dos frascos easy-flask de 10 cm<sup>2</sup>; siendo el último paso la valoración para sacrificio de los cultivos.

El nuevo procedimiento a valorar consiste en realizar un cultivo de uno de los tubos en un frasco de 25 cm<sup>2</sup> y el otro tubo que contiene igualmente 1 mL de líquido amniótico tras su centrifugación, se añaden 5 mL de medio de cultivo que se distribuyen en dos easy-flask; el resto de los pasos es igual que en protocolo anterior excepto en que no se lleva a cabo el proceso de subcultivo del frasco grande a los dos frascos pequeños sino que para distribuir las colonias por toda la superficie del frasco easy-flask se elimina el medio de cultivo, se lava la superficie con 1 mL de tripsina retirándose a continuación, se deposita 1 mL de tripsina y se esperan 4 minutos (en incubador) comprobando en el microscopio invertido de contraste de fases el levantamiento de las células, se añaden 2 mL de medio de cultivo y se agita vigorosamente con pipeta Pasteur para la correcta diseminación de las colonias, se valora nuevamente al microscopio para comprobar que no hay exceso de celularidad (se elimina lo que sea necesario); el paso siguiente consiste en la valoración para el sacrificio que incluye el cambio de medio al día siguiente de la tripsinización o el sacrificio si se observan más de 2 metafases por campo.

### OBJETIVOS:

mejora de los resultados que se van a medir por la disminución del tiempo de cultivo y de la calidad del informe al estudiar dos cultivos independientes.

### Material y métodos:

se han seleccionado 19 muestras en el periodo comprendido entre el 19/11/2013 y 17/01/2014 y se han aplicado los dos protocolos anteriormente mencionados.

La estadística se ha realizado mediante el uso de programa informático SPSS.10 del que se dispone de licencia de usuario. La prueba de normalidad utilizada han sido Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk. La prueba de significación seleccionada ha sido la U de Mann-Whitney. Para calcular las medias y desviaciones se ha utilizado la prueba t de Student. Se han calculado las medianas, máximo y mínimo y percentiles.

### RESULTADOS:

el resultado de la prueba de normalidad reveló la existencia de una distribución no normal, la prueba U de Mann-Whitney reveló que las diferencias eran estadísticamente significativas con una  $p < 0.0001$ . La mediana para el primer protocolo estaba en 14 días (IC al 95% 12.96-14.62), para el protocolo a validar la mediana estaba en 12 días (IC al 95% 10.94-12.54). El cálculo de los percentiles ha revelado que el 25% de las muestras con el primer protocolo acaban su cultivo en 13 días y con el segundo acaban en 12 días, el percentil 90 revela que el 90% de las muestras acaban en 16 días con el primer protocolo y en 13 días con el segundo protocolo.

**Conclusiones:**

el cambio al nuevo protocolo nos va a permitir disminuir el tiempo total de cultivo, mejorando la calidad de los mismos ya que no es necesario recurrir al segundo frasco del protocolo antiguo cuando se descubre algún tipo de mosaico ya que lo tenemos disponible al mismo tiempo (como máximo un día de diferencia), ello hace posible una correcta toma de decisiones por parte de la pareja que solicita la amniocentesis y en el caso de encontrar patología la interrupción del embarazo se podrá llevar a cabo de forma más precoz. Adicionalmente con este nuevo protocolo la Unidad de Citogenética cumple con todos los requisitos del documento: Guía para el Estudio Citogenético en Líquido Amniótico.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

**Número: 054****ANÁLISIS MEDIANTE PCR DE MUTACIONES DE EGFR EN PACIENTES CON CPNMA Y SU PREVALENCIA EN LA PROVINCIA DE TARRAGONA**

*Autor/a/s: Yolanda Luceño Castilla, Inmaculada Criado Najar, David Dorado Cabello, Nuria Calderón Alonso*

*Centro de trabajo: Lab. Clinic ICS Camp de Tarragona, Hospital Joan XXIII*

*Localidad: Tarragona*

*Correo electrónico del primer firmante: yolanda.yolyluca@gmail.com / yolyluca@hotmail.com*

**INTRODUCCIÓN:**

El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) pertenece a una familia de receptores tirosinquinasa de membrana y juega un importante papel en la fisiopatología de numerosos tumores.

En la actualidad, la presencia de mutaciones de EGFR puede considerarse crucial en un subgrupo de pacientes con cáncer de pulmón no microcítico.

Cuando estas mutaciones EGFR están presentes, el comportamiento clínico del tumor, sobre todo, la respuesta terapéutica a los inhibidores tirosinquinasa (TKI), dan lugar a una supervivencia que sobrepasa los dos años de mediana frente a menos de doce meses del cáncer de pulmón convencional. El estudio de mutaciones de este gen en el diagnóstico de rutina tiene un importante valor terapéutico.

**OBJETIVO:**

- Valorar la frecuencia de mutaciones en el gen EGFR en una muestra representativa de pacientes con CPNMA de reciente diagnóstico en la provincia de Tarragona.
- Describir la correlación entre las mutaciones del EGFR y las características clínicas de las muestras estudiadas.

**MATERIAL Y MÉTODOS:**

Se realizaron 134 determinaciones desde septiembre 2012 a septiembre 2013, mediante análisis de PCR con el analizador Cobas Z4800 (PCR a tiempo real específica del alelo, 41 mutaciones, exones 18, 19, 20,21. Sensibilidad 5%) El proceso analítico se basa en:

1. Preparación manual de las muestras para obtener ADN genómico a partir de FFPET (tejido fijado en formol e incluido en parafina)
2. Amplificación y detección del ADN mediante PCR y pares de cebadores complementarios y sonda oligonucleótida con marcadores fluorescentes

**RESULTADOS:**

Figura1: distribución de determinaciones según género, hábito tabáquico y tipo histológico

Figura2: Total de determinaciones analizadas según procedencia: citología o muestra incluida en parafina

Figura3: Frecuencia de mutaciones del gen EGFR en la provincia de Tarragona.

**Conclusión:** Se observan diferencias entre el número de determinaciones de test realizados sobre biopsias y citologías, pero no en los resultados obtenidos. El porcentaje de muestras mutadas en el gen EGFR fue similar al encontrado a nivel mundial, observándose un predominio de mutaciones en los exones 19,21. Las características clínicas que más se correlacionan con la mutación del EGFR se dan en los casos de adenocarcinomas (cáncer más frecuente en mujeres y pacientes no fumadores). La media del TR (tiempo de obtención del resultado) para el análisis del EGFR fue de 7 días laborables.

**Número: 081****DIAGNOSTICO PRENATAL DE ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS MEDIANTE CORDOCENTESIS.**

*Autor/a/s: Corzo Lopez Maria Angeles, Flores Rodriguez Enriqueta, Barcia Barreira Jose Antonio, Sanchez Garcia Francisco Javier, Antiñolo Gil Guillermo, Borrego Lopez Salud.*

*Centro de trabajo: U.C. Genética, Reproducción y Medicina Fetal.(H.U.V.R)*

*Localidad: Sevilla*

*Correo electrónico del primer firmante: mariaa.corzo.sspa@juntadeandalucia.es*

**INTRODUCCIÓN:**

En Andalucía desde el 2009 se ofrece a toda embarazada el cribado prenatal de primer trimestre y la ecografía morfológica de las 20 semanas de gestación dentro del Programa Andaluz de Anomalías Congénitas (PACAC).

**CASOS CLÍNICOS:**

Típicamente en los casos con riesgo elevado en el cribado prenatal de primer trimestre se le ofrece a la embarazada la posibilidad de una prueba invasiva, la biopsia de vellosidades coriales y la amniocentesis. La biopsia de vellosidades coriales se realiza durante el primer trimestre, entre la 12-13 semanas de gestación, y la amniocentesis entre las 15-17 semanas de gestación.

Sin embargo, para los casos en los que se detecte algún tipo de anomalía morfológica en la ecografía de 20 semanas, la amniocentesis no parece el mejor método para el diagnóstico prenatal de anomalías cromosómicas, dado que requiere de un cultivo celular que puede necesitar de 2-3 semanas de cultivo.

Para estos casos la alternativa más eficaz es la extracción de sangre fetal mediante cordocentesis y el estudio del cultivo de linfocitos fetales. Mediante esta técnica es posible, tras 48-72 horas de cultivo, realizar un diagnóstico en 3-5 días.

Describimos nuestros resultados en 137 muestras de sangre fetal en mujeres que durante la ecografía de las 20 semanas se detectó algún tipo de malformación compatible con una anomalía cromosómica.

**DISCUSIÓN:**

En todos los casos aplicamos estudio citogenético, mediante técnicas de bandedo cromosómico y/o hibridación in situ fluorescente (FISH) con sondas específicas para los casos con una patología compatible con algún tipo de síndrome de microdeleción / microduplicación.

Analizamos las anomalías observadas, el tiempo de respuesta y las indicaciones para la realización de la prueba invasiva. Evaluamos los casos de fallo de crecimiento del cultivo y las posibles alternativas. En aquellos casos con anomalías cromosómicas realizamos consejo genético y proponemos el estudio familiar en aquellos casos que estuviera indicado para determinar el riesgo de recurrencia.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

**Número: 085****DIAGNOSTICO GENETICO PREIMPLANTATORIO DE LA HEMOFILIA A**

*Autor/a/s: Molina Luna Isabel, Borrego Ramos Rafael, Corzo Lopez Maria Angeles, Fernandez Garcia Raquel, Peciña Ana, Borrego Lopez Salud, Antiñolo Gil Guillermo.*

*Centro de trabajo: U.G.C de Genética, Reproducción y Medicina Fetal. H.U.V.R (Sevilla)*

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

**INTRODUCCIÓN:**

La hemofilia A es la forma más frecuente de hemofilia caracterizada por hemorragias espontáneas o prolongadas, debidas a la deficiencia del factor VIII. Se trata de una enfermedad rara ya que la prevalencia se estima en alrededor de 1 de cada 6.000 individuos de sexo masculino. La hemofilia afecta principalmente a los varones, pero se ha descrito una forma sintomática de hemofilia A en mujeres portadoras, generalmente, un cuadro clínico leve. En general, la aparición de la enfermedad ocurre cuando los niños afectados comienzan a andar. La gravedad de las manifestaciones clínicas depende de la magnitud de la deficiencia del factor VIII. Si la actividad biológica del factor VIII es inferior a 1%, la hemofilia es grave

y se manifiesta por hemorragias espontáneas y frecuentes y sangrados anormales como resultado de heridas leves o después de cirugía o extracciones dentales. La hemofilia A se transmite de manera recesiva ligada al X y está causada por mutaciones en el gen F8 (Xq28), que codifica para el factor de coagulación VIII.

El diagnóstico genético preimplantacional (PGD) se define como el análisis genético de los embriones obtenidos por fecundación in vitro (FIV) y la posterior transferencia de los caracterizados como no afectados. Su objetivo es ofrecer una opción reproductiva a familias sin problemas de fertilidad pero con alto riesgo de transmitir enfermedades de base genética a su descendencia, como es el caso de la hemofilia A.

#### **METODOLOGÍA:**

La UGC de Genética, Reproducción y Medicina Fetal del Hospital Universitario Virgen del Rocío ha implementado un método molecular aplicado al PGD de hemofilia A. Se basa en una PCR múltiple que permite amplificar simultáneamente una batería de marcadores microsatélite ubicados en Xq28, dentro del gen F8 (STR13, STR22) o flanqueándolo (DXS1073, DXS9901, DXS1108, DXS8087). Los marcadores microsatélite son secuencias repetitivas cortas que por su elevado grado de informatividad y su fácil genotipación directa por PCR, constituyen sin duda la primera elección a utilizar en PGD.

Las parejas incluidas en el programa PGD son sometidas a un ciclo FIV en el que tras estimulación ovárica controlada de la mujer y los correspondientes controles clínicos y ecográficos, se realiza una punción folicular bajo anestesia para la obtención de ovocitos. Los ovocitos maduros son sometidos a inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), y los embriones viables resultantes que presenten una adecuada progresión en su división (6 a 8 células en día+3), son sometidos a biopsia embrionaria para extracción de 1 o 2 células blastómeras. Finalmente se realiza el diagnóstico genético mediante la PCR múltiple sobre dichas células biopsiadas para establecer el estatus de los embriones como afectados o no afectados. Un máximo de 2 embriones sanos que permanezcan viables tras la biopsia son transferidos al útero de la mujer en día +5, y el resto de ellos son criopreservados para posibles futuras transferencias.

#### **RESULTADOS:**

Nuestro método se ha aplicado satisfactoriamente en un total de 53 ciclos de PGD en 30 parejas en las que las mujeres son portadoras de hemofilia A, y ha permitido el diagnóstico fiable del 100% de los embriones analizados. Como resultado se han conseguido un total de 13 gestaciones, y el nacimiento de 12 niños libres de enfermedad.

#### **CONCLUSIONES:**

Las opciones reproductivas fundamentales que se ofrecen actualmente a las parejas portadoras de hemofilia A son el diagnóstico prenatal (DP) y el PGD. Nuestra Unidad ha optimizado un método de diagnóstico molecular de hemofilia A con especial utilidad en su aplicación al PGD, aunque también aplicable a DP y al estudio de portadoras en mujeres de las familias afectadas. Dicho método tiene notables ventajas como su sencillez, robustez, eficiencia, fiabilidad, y rapidez en la obtención de resultados (aproximadamente 4 horas tras la biopsia embrionaria).

transmitir alguna patología que afecta al sistema hematopoyético o inmunitario, para posibilitar la selección de embriones sanos con un tipo HLA compatible con el de un hijo previo afecto. Es una solución satisfactoria para familias afectadas por enfermedades como la b-talasemia o anemia de Fanconi entre otras, ya que da opción al trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH) extraídas del cordón umbilical del nuevo recién nacido sano, a su hermano afecto.

Nosotros presentamos la experiencia de la UGC de Genética, Reproducción y Medicina Fetal del Hospital Universitario Virgen del Rocío en el programa PGD-HLA. Entre nuestros logros destacamos el primer caso exitoso de PGD-HLA realizado por un sistema sanitario público en España, que permitió el nacimiento de un niño sano y el TCMH a su hermano afecto de b-talasemia. A posteriori también se logró el nacimiento de otra niña con cuya sangre del cordón umbilical se pudo realizar el TCMH a su hermano afecto de aplasia medular severa.

#### **METODOLOGÍA:**

Nuestra Unidad ha implementado un método molecular aplicado al PGD-HLA, que permite el diagnóstico y tipaje HLA de embriones de forma eficiente y muy rápida. Consiste en una PCR múltiple única que permite amplificar simultáneamente una batería de marcadores microsatélite ubicados en la región donde se localiza el gen responsable de la enfermedad en cuestión, así como otros marcadores en la región del locus HLA. Tras un ciclo de reproducción asistida, los embriones viables resultantes son biopsiados para extracción de 1 o 2 células blastómeras. Finalmente se aplica nuestro método molecular de PGD-HLA mediante la PCR múltiple sobre dichas células biopsiadas. Un máximo de 2 embriones sanos y HLA-compatibles con el hijo previo afecto de la pareja, y que permanezcan viables tras la biopsia son transferidos al útero de la mujer con el objetivo de intentar lograr una gestación.

#### **RESULTADOS:**

Nuestro método se ha aplicado satisfactoriamente en un total de 26 ciclos de PGD-HLA en 7 parejas con diferentes indicaciones, y ha permitido el diagnóstico fiable del 96% de los embriones analizados (202 embriones en total). El porcentaje de transferencias por ciclo ha sido de 26.9%, y el de nacimiento de bebés sanos y HLA-compatibles con sus hermanos ha sido de 7.7% por ciclo. Concretamente gracias a nuestro programa han nacido 2 niños sanos, HLA-idénticos a sus hermanos, lográndose con éxito el TCMH. Los dos niños trasplantados están totalmente curados de sus correspondientes patologías después de 4 y 2 años respectivamente tras el TCMH. Todos los procedimientos, incluido el TCMH del cordón umbilical, fueron realizados en H.U. Virgen del Rocío.

#### **CONCLUSIONES:**

Nuestra Unidad ha optimizado un método de PGD-HLA que permite el análisis simultáneo de hasta 10 marcadores en la región HLA, y hasta 6 marcadores en la región donde se ubica el gen responsable de la enfermedad en la familia. Dicho método tiene notables ventajas como su eficiencia, fiabilidad, y sobre todo la rapidez en la obtención de resultados, frente a la mayoría de otros métodos que implican más de una ronda de PCR. Asimismo, al tratarse de un método con una sola ronda de PCR, se minimiza la manipulación de las muestras de partida, y por tanto el riesgo de contaminación.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 086**

#### **DIAGNOSTICO GENETICO PREIMPLANTATORIO Y TIPAJE HLA**

*Autor/a/s: Yolanda Peláez Nora, Matilde Romero Zarco, Enriqueta Flores Rodríguez, Ana Peciña López, Raquel Fernández García, Guillermo Antiñolo Gil, Salud Borrego López*

*Centro de trabajo: Unidad de Gestión Clínica de Genética, Reproducción y Medicina Fetal. Hospital Universitario Virgen del Rocío*

*Localidad: Sevilla*

*Correo electrónico del primer firmante: yolandapelaez@yahoo.co.uk*

#### **INTRODUCCIÓN:**

El diagnóstico genético preimplantatorio (PGD) es una alternativa terapéutica que se ofrece a parejas con alto riesgo de transmitir enfermedades de base genética a su descendencia. Consiste en el análisis genético de embriones obtenidos por fecundación in vitro (FIV) y la posterior transferencia de los caracterizados como no afectados. Dentro de sus aplicaciones, el PGD combinado con el tipaje HLA (PGD-HLA), ha surgido como una herramienta destinada a parejas con riesgo de

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 133**

#### **APLICACIÓN DE LAS TÉCNICAS DE SECUENCIACIÓN MASIVA DE NUEVA GENERACIÓN AL DIAGNÓSTICO DE LA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR**

*Autor/a/s: Estefanía Martínez Barrios, Ana Isabel Martínez Puchol, Vanessa López Álvarez, Montserrat Bernat, Joan Clària.*

*Centro de trabajo: Hospital Clinic de Barcelona*

*Localidad: Barcelona*

*Correo electrónico del primer firmante: estefania160@yahoo.com*

#### **RESUMEN:**

La hipercolesterolemia familiar (FH) es una enfermedad autosómica dominante que cursa con niveles elevados de colesterol asociados a lipoproteínas de baja densidad (LDL) en plasma, aumentando así el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares en los pacientes que la padecen.

Para conseguir un diagnóstico fiable de la enfermedad se deben tener en cuenta criterios bioquímicos, clínicos y genéticos. En este trabajo se describe la aplicación de un nuevo método de secuenciación usado en el diagnóstico genético de

esta enfermedad: la secuenciación de nueva generación (NGS). Este método permite estudiar todas las mutaciones y variantes génicas en los genes: LDL receptor, APOB y PCSK9; las cuales son causantes de la enfermedad.

Fueron analizadas 85 muestras por NGS mediante el panel LipoNext de Progenica utilizando la tecnología GS JUNIOR 454 de Roche, cuyo principio se basa en la construcción de una librería de amplicones de los genes de interés que después son amplificados clonalmente en una PCR en emulsión para finalmente ser secuenciados por pirosecuenciación. Esta técnica utiliza los pirofosfatos liberados en la reacción de síntesis del DNA por la polimerasa para generar un haz de luz que será detectada por una cámara y que permitirá conocer la secuencia del fragmento, así una sola carrera de secuenciación genera un rendimiento de hasta 40 millones de bases.

Mediante la incorporación de unas secuencias identificativas (MIDs) a cada fragmento esta técnica permite el estudio de hasta 20 pacientes simultáneamente en una misma carrera de secuenciación, lo que agiliza significativamente el flujo de trabajo en el laboratorio y disminuye el tiempo de respuesta. Así pues se concluye que la NGS es el método de elección en el estudio genético de los casos índices de Hipercolesterolemia Familiar.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 135**

### **ANÁLISIS FARMACOGÉNICO DE CYP3A4\*1B Y CYP3A5\*3 EN PACIENTES QUE PRESENTAN REACCIONES ADVERSAS MEDICAMENTOSAS**

*Autor/a/s: Pilar Carrero Baz; Amador Crego Martín; Gloria Ines Hincapié Lopez*

*Belen García Berrocal; María Isidoro García*

*Centro de trabajo: Centro Asistencial Universitario de Salamanca*

*Localidad: Salamanca*

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

#### **INTRODUCCIÓN:**

Se han descrito numerosos polimorfismos genéticos que afectan a la funcionalidad de las enzimas del Citocromo CYP450, los cuales constituyen una de las principales causas de efectos adversos o fallo terapéutico para muchos fármacos. CYP3A4 y CYP3A5 son las isoformas de CYP450 más abundantes constituyendo el 25-40% del contenido hepático de CYP-450 y metabolizan el 50% de los fármacos incluyendo antirretrovirales, inmunosupresores, antiagregantes, plaquetarios, antidepresivos, antineoplásicos, antihipertensivos, hipolipemiantes, antimicóticos, antiheméticos y anticonvulsivantes.

Entre los polimorfismos que modifican en gran medida la síntesis de estas enzimas y afectan a la hidroxilación de diferentes fármacos se encuentra la presencia de un cambio en CYP3A4 de adenina por guanina en la posición -392 CYP3A4\*1B (rs2740574) y el cambio en CYP3A5 de adenina por guanina en la posición 6986, CYP3A5\*3 (rs776746).

Los individuos portadores de los alelos CYP3A4\*1B y CYP3A5\*3 presentan una modificación en la actividad de la proteína y en el aclaramiento hepático de los fármacos metabolizados por esta vía.

#### **OBJETIVO:**

Estudio de las frecuencias alélicas y genotípicas de los alelos CYP3A4\*1B y CYP3A5\*3 en una población de pacientes tratados con diversos fármacos de entre los mencionados anteriormente.

#### **MATERIAL Y MÉTODOS:**

En este estudio se incluyeron 132 pacientes con patologías relacionadas con reacciones adversas medicamentosas. 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 completar el procedimiento de validación de esta técnica se procedió a una determinación en un laboratorio externo de los genotipos homocigoto AA para CYP3A4 y homocigoto GG para CYP3A5. El análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS y el equilibrio de Hardy-Weinberg se analizó mediante la prueba de Chi<sup>2</sup>.

#### **RESULTADOS:**

Al realizar la puesta a punto de la técnica se identificaron los correspondientes patrones: Tm=49°C para el alelo A y una Tm=56°C para el alelo T de CYP3A4 y en cuanto al análisis del CYP3A5 se obtuvieron unos valores de Tm =54°C para el alelo G y una Tm=60°C para el alelo A.

En el análisis de las frecuencias alélicas de CYP3A4\*1B se observó una frecuencia del alelo A de 0.96 y del alelo G de 0.04 y para las frecuencias genotípicas se observaron para el homocigoto AA 92,4% y para el heterocigoto AG 7,6%, no se encontró ningún homocigoto mutado GG en nuestra población.

En cuanto al análisis de las frecuencias alélicas de CYP3A5\*3 se observó una frecuencia del alelo A de 0.06 y de él alelo G de 0.94 y para la frecuencia genotípica se encontró para el homocigoto AA 0.8%, heterocigoto GA 12.1% y para el homocigoto mutado GG 87.1%.

#### **CONCLUSIONES:**

La estrategia de individualización terapéutica mediante el análisis farmacogenético de los alelos CYP3A4\*1B y CYP3A5\*3 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 reducen los costes sanitarios por ingresos hospitalarios.

CYP3A5 puede actuar como vía alternativa a CYP3A4 sin embargo, dada la elevada incidencia de portadores del alelo G en homocigosis de CYP3A5\*3 que alcanza el 87%, hay que tener en cuenta que esta vía puede no ser alternativa eficaz en los casos de polimedicación en nuestra población.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 136**

### **ESTRATEGIA DE INDIVIDUALIZACIÓN TERAPÉUTICA :DETERMINACIÓN DEL POLIMORFISMO 3435C>T DEL GEN MDR1**

*Autor/a/s: Pilar Carrero Baz; Amador Crego Martín; Gloria Ines Hincapié Lopez*

*Belen García Berrocal; María Isidoro García*

*Centro de trabajo: Centro Asistencial Universitario de Salamanca*

*Localidad: Salamanca*

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

#### **INTRODUCCIÓN:**

La Glicoproteína P (P-gp) es una proteína de membrana miembro de la familia de transportadores ABC, subfamilia MDR/TAP que se encuentra distribuida ampliamente por todo el organismo y tiene un alto nivel de expresión en el intestino y en la barrera hematoencefálica. Su actividad consiste en actuar como bomba de expulsión de xenobióticos hacia el exterior de la célula, disminuyendo la concentración intracelular de múltiples fármacos: como antidepresivos, inmunosupresores, inhibidores de calcineurina, corticosteroides y antirretrovirales entre otros.

Se ha identificado un gen, MDR1 (ABCB1), que codifica esta glicoproteína P. Una de las variantes encontrada en este gen es un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) en el exón 26 en la posición génica 3435 en la que se produce un cambio de citosina por timina (3435C>T), rs1045642.

Los pacientes homocigotos TT y heterocigotos CT presentan un menor nivel de expresión de P-gp que los homocigotos CC, y con ello una menor eliminación de la droga a través de este transportador aumentando su concentración intracelular con un riesgo de toxicidad grave asociado.

#### **OBJETIVO:**

Nos planteamos la puesta a punto en nuestro laboratorio del genotipado del polimorfismo 3435C>T del gen MDR1 para poder llevar a cabo la individualización de la terapia farmacológica dado que el genotipo específico de cada paciente se refleja en la eficiencia y toxicidad del tratamiento.

#### **MATERIAL Y MÉTODOS:**

En este estudio se incluyeron 22 muestras de sangre total con EDTA como anticoagulante. Se realizó la extracción de ADN mediante el sistema MagnaPure® Compact (Roche Diagnostics) eluyendo en 200ul. A partir del ADN se realizó un análisis de PCR en tiempo real empleando sondas FRET en un equipo LightCycler® (LC) 480 (Roche Diagnostics).

Para la validación metodológica y confirmación de los genotipos obtenidos por PCR a tiempo real se realizó una amplificación del fragmento utilizando los pri-

mers correspondientes en un sistema Gene Amp PCR System 9700 de Applied Biosystems 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 el Kit High Pure PCR purificación (Roche Diagnostics) y fue secuenciado empleando un secuenciador automático ABI PRISMA 377 DNA Sequencer.

El análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS y el equilibrio de Hardy-Weinberg se analizó mediante la prueba de Chi<sup>2</sup>.

#### RESULTADOS:

Se identificaron los correspondientes patrones con una Tm=53.18°C para el alelo C y una Tm = 60°C para el alelo T que servirán de referencia para la interpretación de las curvas de fusión del análisis de PCR a tiempo real. La frecuencia identificada para el alelo C fue de (0.39) y de para el alelo T (0.61). La distribución por genotipos de los resultados obtenidos fue: homocigotos CC 13,6%, heterocigotos CT 50 % y homocigotos TT 36,4 %. En la validación metodológica, la amplificación proporcionó un único fragmento de 386 pb en todos los casos y el análisis del cromatograma permitió confirmar los patrones homocigoto normal CC, heterocigoto CT y homocigoto mutado TT.

#### CONCLUSIONES:

La identificación del polimorfismo rs1045642 del gen MDR1 (ABCB1) mediante PCR a tiempo real supone una estrategia de individualización terapéutica para diversos fármacos muy utilizados en la práctica diaria. Dada la elevada incidencia de portadores del alelo T en nuestra población, que alcanza casi el 61%, existe un gran número de pacientes en los que el nivel de expresión de P-gp se encontraría alterado, por lo que el análisis farmacogenético previo al inicio del tratamiento supondría 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 reduciría los costes sanitarios.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 203**

#### ORGANIZACIÓN DEL TRABAJO Y TRAZABILIDAD DE LAS MUESTRAS EN UN SERVICIO DE GENÉTICA

*Autor/a/s: MARIA INMACULADA MARTINEZ MATIENZO, GERAXANE DOBARAN INSAUSTI, ESTIBALIZ ACHALANDABASO RUIZ, ESTHER SARASOLA DIEZ.*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO BASURTO*

*Localidad: BILBAO*

*Correo electrónico del primer firmante: M.INMACULADA.MARTINEZMATIENZO@osakidetza.net*

#### INTRODUCCIÓN:

Las actividades que realizan los técnicos en el laboratorio de Genética se encuentran actualmente muy poco automatizadas y no se dispone de aplicaciones informáticas suficientemente flexibles para permitir incluir genes y exones a voluntad, para acomodarse a la forma de trabajo, para mantener una trazabilidad de los resultados parciales que se obtienen entre el inicio y el final de las determinaciones que se solicitan o para conocer tiempos de realización, dificultando de esta manera el seguimiento y medición de todo el proceso.

#### OBJETIVOS:

En este trabajo presentamos una aplicación en una plataforma multiusuario que persigue dos objetivos: 1. Facilitar a los técnicos de laboratorio el control de las solicitudes realizadas; 2. Conocer los tiempos del proceso.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

En el verano de 2013, se formó un grupo de trabajo (2 técnicos, 1 facultativo, 1 responsable de Calidad) que, en diferentes sesiones:

1. Estructuró en cinco fases la secuencia de las actividades que se realizan en el laboratorio (trazabilidad): registro de la solicitud, amplificación de DNA, secuenciación de DNA, validación del resultado e impresión del informe.
2. Estableció la cartera de servicios (genes y exones) que debía contener la aplicación.
3. Consensuó las funciones de los técnicos y los facultativos en la secuencia de actividades.
4. Definió la información que debían contener los diferentes formularios (información de la solicitud, del técnico responsable, ficheros de amplificación y

estimación del número de repeticiones, ficheros de secuenciación y estimación del número de repeticiones), dejando dos campos de comentarios para la comunicación entre los técnicos y los facultativos.

5. Para realizar el análisis de tiempos, estableció los puntos de corte de la secuencia de actividades (fecha de solicitud, fecha de realización de la amplificación, fecha de realización de la secuenciación, fechas de realización de las repeticiones de secuenciación, fecha de validación y fecha de impresión).
6. Definió los informes de planificación y seguimiento de las actividades (informe de pendientes en cada fase).
7. Diseñó un formato de visualización del tiempo de demora para cada uno de los genes.

#### RESULTADOS:

En septiembre de 2013 se introdujeron las primeras determinaciones en la aplicación. La aplicación incluye actualmente la posibilidad de realizar la trazabilidad de 35 genes (con sus exones de interés). En los primeros seis meses se han registrado 156 solicitudes, entre ellas 37 MUTYH, 34 IL28b, 27 APC, 18 BRCA, 12 MSH6, 7 PMS2, 6 GRN y 6 MEFV. La aplicación proporciona informes de las determinaciones pendientes de amplificar, secuenciar, validar e informar, permitiendo realizar búsquedas de la fase del proceso por número de solicitud y gen. Además, proporciona información del tiempo total de realización (entre la solicitud y la impresión) para cada uno de los genes.

#### CONCLUSIONES:

La aplicación permite conocer la fase del proceso en la que se encuentran todas las solicitudes, facilitando la organización del trabajo diario a los técnicos.

La aplicación permite conocer la distribución de los tiempos de realización (agrupados por gen) de todas las solicitudes. Esto permitirá más adelante analizar resultados de tiempos en cada fase para la gestión de las demoras y asignar recursos que agilicen el proceso operativo en la fase que permita mayor impacto en la demora.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 204**

#### OPTIMIZACIÓN Y SISTEMÁTICA DE LA TÉCNICA DEL GEN APC EN EL LABORATORIO DE GENÉTICA

*Autor/a/s: GERAXANE DOBARAN INSAUSTI, MARIA INMACULADA MARTINEZ MATIENZO, JUSTINA GARCIA COSGAYA, MARIA GARCIA BARCINA.*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO BASURTO*

*Localidad: BILBAO*

*Correo electrónico del primer firmante: GERAXANE.DOBARANINSAUSTI@osakidetza.net*

#### INTRODUCCIÓN:

La poliposis adenomatosa familiar (PAF) es una enfermedad hereditaria que se transmite con carácter autosómico dominante. La forma clásica de presentación (con más de 100 pólipos adenomatosos), en la que el riesgo de malignización sin tratamiento de los mismos es del 100%, es relativamente poco frecuente. Sin embargo, más recientemente se han descrito formas atenuadas en las, aunque sigue existiendo el riesgo de malignización de los pólipos, el número es mucho menor.

Ambas formas de poliposis adenomatosa, clásica y atenuada, están causadas por mutaciones en el gen APC (adenomatous polyposis coli). Este gen, ubicado en el cromosoma 5 y compuesto por 8535 pb distribuidas en 15 exones, codifica para una proteína grande de 2843 aminoácidos. El exón 15 ocupa >75% de la secuencia y es la más común región mutacional.

#### OBJETIVOS:

Establecer una sistemática de análisis del gen APC con el fin de minimizar el tiempo de realización de la técnica y el riesgo de errores. Optimización de la distribución de los primers de exones en placa de 96 pocillos para la realización de la amplificación y secuenciación del gen.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se distribuyen los primers en una placa de 96 pocillos, utilizando los primeros 40 pocillos (cinco columnas) —el exón 15 se separa en 23 regiones— para realizar la amplificación.

Se utilizan dos programas de amplificación. Uno para los exones 8 y 13, y otro para el resto de exones.

Para realizar la secuenciación, se divide otra placa de 96 pocillos en dos. Las primeras cinco columnas (40 pocillos) se destinan a los primers forward y otras cinco columnas se destinan a los primers reverse.

Empleamos una pipeta multicanal para dispensar los primers en los pocillos.

Copiamos la distribución de los primers, tanto de la amplificación como de la secuenciación, en los formularios de una aplicación informática diseñada al efecto.

El cálculo del tiempo de realización y el control de errores se ha llevado a cabo utilizando la herramienta diseñada en nuestro laboratorio.

#### RESULTADOS:

El tiempo de realización de la Amplificación tiene un rango entre 1 y 8 días (contando fines de semana y repeticiones), con una media de 5 días.

Realizamos la amplificación de dos muestras en la misma placa con un riesgo de error mínimo.

#### CONCLUSIONES:

La repetición sistemática del proceso permite la realización de mayor número de determinaciones.

Esta sistemática se puede aplicar en la realización de otros genes, en especial para los que tienen un número mayor de exones, lo que implica minimizar el riesgo de cometer errores.

Facilita el seguimiento de exones que hay que repetir, al estar siempre en la misma posición en la placa y en la aplicación.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 210**

#### LA ADICCIÓN DE FILGASTRIM (G-CSF) FAVORECE LA OBTECIÓN DE METAFASES EN PACIENTES CON PATOLOGÍA MIELOIDE.

*Autor/a/s: Susana Rodríguez Rrodriguez, Esther Suarez Melendre, Patricia Buron Mediavilla, Dr Sonia Gonzalez de Villambrosia, Dra Ana Battlle Lopez, Dra Encarna Bureo Dacal.*

*Centro de trabajo: (Hospital Universitario Marques de Valdecilla)*

*Localidad: Santander*

*Correo electrónico del primer firmante: caruso60@hotmail.es)*

#### INTRODUCCIÓN:

El estudio citogenético en pacientes con enfermedades hematológicas de tipo mieloides, es determinante para su diagnóstico y pronóstico. Para este estudio es fundamental la obtención de metafases para realizar el cariotipo. En patologías linfoides el uso de estimulantes del crecimiento, como la fitohemaglutinina en linfoproliferativos T ha dado buenos **RESULTADOS:**

Objetivos: Evaluar si la adición de filgrastim G-CSF (factor estimulante de granulocitos G-CSF es una glicoproteína que potencia la maduración de las células precursoras de los granulocitos) aumenta el número de metafases analizables en el cultivo celular de pacientes con patología mieloides. Evaluar si adicionando el factor de crecimiento G-CSF se incrementa la posibilidad de detectar anomalías citogenéticas.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Estudio experimental. Se estudiaron de forma paralela los cariotipos de 38 pacientes con distintos tipos de neoplasias hematológicas: 29% Síndromes mielodisplásicos (SMD), 29% Síndromes mieloproliferativos crónicos (SMPC), 13% leucemias mielomonocíticas crónicas (LMMC), 11% leucemias mieloides agudas (LMA) y 18% otros, con y sin estimulante.

Para el cultivo de las muestras utilizamos medio de cultivo RPMI-1640 suplementado con 20% de suero de ternera fetal, 1.6 % de glutamina, 1.6 % de penicilina y los cultivos con estimulante 0,24 MU/ml de G-CSF, entre 24 y 72 horas. El paro mitótico se realizó incubando 100 µl/5ml de colcemid durante 10 minutos. Ambos cultivos fueron analizados tras tinción de bandas G por dos observadores diferentes.

#### RESULTADOS:

En todos los casos se obtuvieron metafases siendo la mediana de metafases estudiadas de 20 (5-20). En 6 de los casos solo se obtuvieron metafases en los

cultivos procesados con estimulantes. Se obtuvieron mayor número de metafases con mejor morfología cromosómica en el 63% de los cultivos con C-SFG. En un 13% el método de cultivo fue indiferente, mientras que otro 13% no fue valorable. No se encontraron diferencias en los distintos subtipos de patologías mieloides

#### CONCLUSIONES:

Hemos comprobado que el uso de filgrastim G-CSF nos permite obtener mayor número de metafases y con mejor morfología cromosómica facilitándonos el estudio citogenético en pacientes con patologías mieloides

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 211**

#### ANÁLISIS DEL RATIO DE LA MUTACIÓN FLT3-ITD EN LAS LEUCEMIAS MIELOIDES AGUDAS DE RIESGO INTERMEDIO

*Autor/a/s: CABEZAS FERNÁNDEZ SANDRA, COLOMER PUJOL DOLORS*

*Centro de trabajo: HOSPITAL CLINIC I PROVINCIAL DE BARCELONA*

*Localidad: BARCELONA*

*Correo electrónico del primer firmante: scabez@clinic.cat*

#### INTRODUCCIÓN:

En la leucemia mieloides aguda (LMA), las mutaciones de NPM1 y FLT3 definen grupos de pacientes con distinto pronóstico en la categoría citogenética de riesgo intermedio, que corresponde a los casos sin alteraciones mediante citogenética convencional. En particular las mutaciones de FLT3 del tipo de duplicación interna en tándem "internal tandem duplication" (ITD) constituyen un grupo de peor pronóstico. Estas mutaciones tienen lugar en los exones 14 y 15 y provocan la alteración de esta quinasa. Además el porcentaje de la mutación redefine aún mejor estos grupos de riesgo, siendo aquellos casos con un ratio mayor de 0.5 los que tienen un peor pronóstico y en la actualidad reciben tratamientos más agresivos.

#### CONCLUSIONES:

Analizar el ratio de FLT3 en 303 pacientes diagnosticados de LMA con un riesgo citogenético intermedio, con edades inferiores a los 60 años.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Obtenemos los leucocitos de médula ósea mediante Ficoll, un gradiente de densidad. Posteriormente hacemos la extracción de ARN utilizando Trizol® y realizamos la retrotranscripción del ARN a cDNA. Posteriormente realizamos la PCR con los oligonucleótidos específicos correspondientes a los exones 14 y 15. Comprobamos el producto amplificado mediante electroforesis en el equipo QIAXCEL, que nos indicará si hay mutaciones de tipo ITD o no. En el caso de que la haya, haremos el análisis de fragmentos mediante el sistema GENESCAN, utilizando el secuenciador ABI PRISM 3100 y analizando con el software GENEMAPPER, que nos permitirá calcular el ratio

#### RESULTADOS:

De los 303 pacientes analizados, en 209 pacientes se detectó un patrón normal (69%) y en 94 pacientes (31%) se detectó la mutación de FLT3 del tipo ITD. Al analizar el porcentaje de la mutación, se detectó en 38 pacientes (12 %) un ratio inferior a 0.5 y en 56 pacientes (19%) un ratio superior a 0.5. Un 59,6% de los pacientes con mutación FLT3-ITD presentan ratios superiores a 0.5.

#### CONCLUSIONES:

La técnica de Genescan es muy útil para determinar el ratio de mutación de FLT3-ITD en las LMA de riesgo intermedio, la cual cosa nos permite determinar el tratamiento más adecuado para cada paciente.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 212**

#### APLICABILIDAD DE LA TECNOLOGÍA FLUIDIGM PARA EL ANÁLISIS DE EXPRESIÓN GÉNICA EN RNA EXTRAÍDO DE MATERIAL FIJADO E INCLUIDO EN PARAFINA.

*Autor/a/s: Roldán Moreno, Jocabed; Jiménez, Laura; Colomer, Dolors.*

*Centro de trabajo: Centre Esther Koplowitz, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer*

Localidad: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: jroldan@clinic.cat

## INTRODUCCIÓN:

La obtención de ARN de material fijado e incluido en parafina es problemático debido al poco material de algunas biopsias y al proceso de degradación que sufre el ARN al fijarse con formaldehído. Estos dos factores determinan que en muchos casos, estas muestras no sean candidatas a análisis de expresión génica mediante PCR cuantitativa.

El sistema BioMark HD de Fluidigm Corporation es una plataforma de PCR a tiempo real de alto rendimiento que combina la tecnología de chips o arrays de nanofluidica con la PCR a tiempo Real. La combinación de los Dynamic Arrays de formato 48.48 y 96.96 con el BioMark HD System permite la realización simultánea de 2.304 o 9.216 reacciones de PCR a tiempo real, respectivamente, con un gasto mínimo de reactivos y muestras (nanolitros por reacción), y tiempo.

## CONCLUSIONES:

Analizar la posibilidad de utilizar la plataforma de Fluidigm en muestras de ARN procedentes de biopsias de hígado obtenidas mediante punción y fijadas e incluidas en parafina.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se ha extraído ARN de 46 biopsias de hígado obtenidas mediante punción y que se fijaron e incluyeron en parafina. La cantidad de ARN se ha cuantificado en un Nanodrop. El ARN se trató con DNAsa para eliminar los restos de ADN. Posteriormente, 1 L de ARN (a una concentración entre 2.5 pg/L y 250 ng/L) se retrotranscribió a cDNA utilizando el kit "Reverse Transcription Master Mix" de Fluidigm que es ideal para amplificar poca cantidad de ARN. El cDNA se pre-amplificó con el kit "PreAmp Master Mix" que contiene todos los genes a amplificar, un total de 94 genes. Por último, estos productos pre-amplificados se amplifican en el sistema BioMark HD de Fluidigm Corporation en el formato 96.96, en la que tenemos 94 genes y 46 muestras por duplicado. Los resultados se analizaron con un software específico.

## RESULTADOS Y CONCLUSIONES:

La calidad de la amplificación se ha analizado a partir de los resultados obtenidos de la amplificación de 3 genes endógenos conocidos (ATP5I, GNB2L1, RPS10). El análisis del gen ATP5I demuestra que todas las 46 muestras se han amplificado, con un rango de Ct (ciclo donde empieza a detectarse el producto amplificado) de 14,10 a 28.

Resultados semejantes se han obtenido mediante la amplificación del gen GNB2L1, en la que todos los casos son valorables y el rango de Ct es de 16,74 a 28.5.

En cambio dos muestras, las que tienen las Ct más altas con los genes ATP5I y GNB2L1, no han amplificado con el gen RPS10, aunque tienen rangos de Ct parecidos (14,13 a 28,96).

Estos resultados demuestran que el sistema BioMark HD de Fluidigm es de gran utilidad para análisis de expresión génica en muestras con poca cantidad de ARN y parcialmente degradado. Mediante este sistema hemos podido analizar simultáneamente 9216 reacciones con un gasto mínimo de reactivos y muestras.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 215

## IDENTIFICACION Y CUANTIFICACION DE QUIMERISMO HEMATOPOYETICO MEDIANTE PCR CUANTITATIVA EN TIEMPO REAL ANALIZANDO POLIMORFISMOS DE INSERCIÓN/DELECIÓN .

Autor/a/s: SANDRA MARTINEZ PALACIOS, MARTA AYMERICH, DOLORS COLMER

Centro de trabajo: Hospital Clinico de Barcelona

Localidad: BARCELONA

Correo electrónico del primer firmante: sany20@hotmail.com

## INTRODUCCIÓN:

El estudio de quimerismo hematopoyético, que es la coexistencia en un mismo organismo de poblaciones celulares originarias en dos individuos genéticamente distintos, es utilizado en el seguimiento de un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, ya que el paciente trasplantado posee células de estirpe hematopoyética del donante. La técnica habitual es la realización de técnicas semi-

cuantitativas mediante análisis de STRs. Recientemente han salido en el mercado sistemas cuantitativos de análisis de quimerismo basado en el análisis de polimorfismos de inserción y delección.

## OBJETIVOS:

Evaluar el kit comercial Mentype® DIPscreen/DIPquant, basada en un pool de 57 ensayos alelo-específicos de PCR a tiempo real (qPCR) y el análisis de los resultados en un software específico el Chimerism™Monitor.

## MÉTODOS:

Se han comparado 8 muestras de ADN correspondientes a 2 pacientes (donante, receptor y 2 muestras de seguimiento) utilizando el método convencional de análisis mediante STR Profiler Plus y el kit Mentype. Para las muestras de donante y receptor se realiza una extracción de ADN a partir de sangre periférica. Para las muestras de seguimiento, se realiza una separación de las subpoblaciones leucocitarias (linfocitos T y granulocitos) mediante un separador inmunomagnético AutoMACS® Pro Separator y posteriormente se realiza la extracción del ADN.

En el método convencional realizaremos una PCR multiplex con el kit Amp/FISTR Profiler Plus de Applied Biosystems y análisis de los resultados mediante Genescan en un secuenciador automático Abi Prism 310. El kit comercial Mentype® DIPscreen/DIPquant se basa en la identificación en la muestra del donante y receptor de los polimorfismos informativos mediante PCR cualitativa con análisis en Genescan, y seguidamente la cuantificación relativa mediante qPCR utilizando los alelos informativos y análisis posterior con un software específico.

## RESULTADOS:

En los 2 pacientes analizados se han obtenido polimorfismos informativos. En un paciente los polimorfismos informativos han sido el HLD104-D y el HLD307-I y para el otro paciente los polimorfismos informativos han sido HLD70-I y el SMCY. Se han obtenido resultados comparables y mejor cuantificados mediante la utilización del kit comercial Mentype.

## CONCLUSIONES:

El análisis cuantitativo de la presencia de quimerismo hematopoyético en el periodo de post-trasplante es una forma más precisa que permitirá con mayor seguridad y precisión la predicción de recaídas y la toma de decisiones terapéuticas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 223

## UN ESTUDIO FAMILIAR DEL GEN APC REVELA MOSAICISMO SOMÁTICO EN UN PROGENITOR Y EN UNO DE SUS DESCENDIENTES

Autor/a/s: Gil Galochino, María Carmen y Robles Solano, Maitane

Centro de trabajo: Clínica Universidad de Navarra

Localidad: Pamplona

Correo electrónico del primer firmante: mcgil@unav.es

## INTRODUCCIÓN:

La poliposis adenomatosa familiar (PAF) es una enfermedad hereditaria, debida a mutación germinal del gen APC, que se transmite con carácter autosómico dominante. La típica probabilidad de recurrencia del 50% disminuye, entre el 25-30%, cuando el progenitor es un mosaico somático. Las mutaciones en mosaico no son fáciles de identificar mediante secuenciación capilar, por lo que a los descendientes de los individuos con mutación en mosaico habitualmente se les considera erróneamente mutaciones de novo.

## CASO CLÍNICO:

Presentamos el caso de una familia en la que la madre es portadora de una inserción en mosaico en el exón 11 del gen APC y desarrolló cáncer de colon a los 56 años (actualmente 74 a). Dos de sus tres hijos son portadores de la misma mutación, en uno de ellos la mutación se presenta también en mosaico. El análisis del gen APC en línea germinal materna no identificó ninguna alteración. Uno de sus hijos (43 a) desarrolla numerosos pólipos y, tras consejo genético, se recomienda análisis del gen APC. Se identifica mutación en línea germinal en el exón 11 (c.1498insA/p.Y500X). En vista de este resultado, se realiza estudio genético dirigido a la mutación p.Y500X en una lesión pre-maligna de la madre, identificándose la mutación en heterocigosis, estableciéndose, por tanto, el estatus de mosaicismo para esta mutación. El análisis dirigido a la mutación en la sangre periférica de la hija de 45 a, sin lesiones pre-malignas, resultó negativo. El otro

hijo de 49 a, con sospecha clínica, no presentó la mutación ni en línea germinal ni en tejido somático de biopsia de masa mesentérica. Sin embargo, tras solicitar análisis de la biopsia de una lesión colon-anal, el resultado fue positivo. Estos hallazgos nos sitúan ante un caso de transmisión en mosaico a uno de los descendientes y, al mismo tiempo, un mosaico específico de tejido.

#### **MATERIAL Y MÉTODOS:**

Se ha extraído el ADN de línea germinal mediante extracción con el kit QiampDNA Blood Mini kit (Qiagen) y el de la biopsia tumoral con el kit NucleoSpin Tissue (Macherey-Nagel). Se amplificó mediante PCR el exón 11 del APC, en un termociclador Verity (Life Technologies) y se sometió a secuenciación por el método Sanger en un secuenciador capilar ABI3130XL (Life Technologies). Los resultados obtenidos se analizaron mediante el programa Seq Scape v2.5, que permite comparar las secuencias obtenidas con las secuencias patrón.

#### **CONCLUSIONES:**

La pauta de actuación clínica no está bien definida en los casos en que la alteración del gen APC no se detecta en línea germinal, haciendo necesario el análisis genético en lesiones pre-malignas (pólipos) o malignas (tumores).

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 236**

#### **ANÁLISIS DE LA MUTACIÓN DE CALRETICULINA (CALR) EN MIELOFIBROSIS**

*Autor/a/s: Jiménez Martí, Laura; Colomer Pujol, Dolors*

*Centro de trabajo: Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clínic de Barcelona*

*Localidad: Barcelona*

*Correo electrónico del primer firmante: ljimene1@clinic.cat*

#### **INTRODUCCIÓN:**

El descubrimiento de una mutación clonal en el exón 14 del gen JAK2 supuso un avance en el conocimiento de las enfermedades mieloproliferativas y en su diagnóstico. Aproximadamente el 95% de los casos de Policitemia vera (PV), el 50- 60% de los casos de trombocitemia esencial (TE) y de mielofibrosis (MF) presentan mutaciones en este gen, un 5 % restante representan mutaciones en MPL, quedando alrededor de un 40-45 % de casos sin un marcador molecular específico.

La calreticulina (CRT) es una proteína que está involucrada en el mantenimiento de niveles adecuados de calcio y también tiene función de chaperona para ayudar a otras proteínas a plegarse correctamente.

En diciembre del 2013 se han descrito inserciones o deleciones en el exón 9 de la calreticulina (CALR) en estas entidades de TE y MF, siendo mutuamente exclusivas a las mutaciones de JAK2 y MPL. Las mutaciones de CALR no se han detectado en ningún caso de PV.

#### **OBJETIVOS:**

Analizar la presencia de mutaciones de CALR en pacientes con mielofibrosis JAK2 negativos en una serie de casos del servicio de Hematología del hospital Clínic de Barcelona.

#### **MATERIAL Y MÉTODOS:**

Se ha extraído ADN de sangre total o de granulocitos obtenidos en sangre periférica de muestras con MF (57 casos) mediante extracción automática en el sistema Qiacube. La determinación de la mutación de calreticulina se ha realizado mediante PCR y análisis en un secuenciador automático Abi Prism 3100 (Genescan-PCR) utilizando oligonucleótidos marcados con fluorocromos. Para el análisis de los resultados se utiliza el software Genemapper, según el protocolo descrito en Klampfl et al. Somatic Mutations of Calreticulin in Myeloproliferative Neoplasms. N Engl J Med 2013;369:2379-90.

#### **RESULTADOS:**

Se ha encontrado la presencia de la mutación en el 48% de los pacientes JAK2 negativos. La mutación de tipo 1 (del52bp) de CALR constituye el 78 % de los casos y la tipo 2 (ins5bp) de CALR el 22% de los casos.

#### **CONCLUSIONES:**

La detección de la mutación de CALR es una técnica que debe implantarse en los laboratorios ya que es de gran utilidad para la mejor clasificación de estas neoplasias mieloproliferativas.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 243**

#### **ESTUDIO GENÉTICO EN PACIENTE CON FIBROSIS QUÍSTICA CON IDENTIFICACIÓN DE UNA MUTACIÓN POCO FRECUENTE**

*Autor/a/s: (Torres Carrasco Elena, Vega Vargas Concepción, Ocaña Pérez Esther, Vera Vega A, García García Juan*

*Centro de trabajo: Complejo Hospitalario de Jaén*

*Localidad: JAEN*

*Correo electrónico del primer firmante: etc696@gmail.com*

#### **INTRODUCCIÓN:**

La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad hereditaria que afecta a las glándulas mucosas y sudoríparas, principalmente los pulmones, el páncreas, el hígado, los senos paranasales y los órganos sexuales. Los síntomas y la severidad de la FQ pueden variar ampliamente. Es una enfermedad de carácter hereditario autosómica recesiva. El gen responsable CFTR se localiza en el brazo largo del cromosoma 7 y codifica una proteína reguladora de la conductancia transmembrana. Es una glicoproteína que regula el transporte del cloro de las células exocrinas. Cuando se halla alterada se produce un trastorno de los canales del cloro, con una disminución de la secreción de agua, conduciendo a un aumento de la viscosidad de las secreciones. Actualmente se han descrito más de 1000 mutaciones, aunque la más frecuente en nuestra población es la F508.

#### **OBJETIVO:**

Valorar la importancia del estudio genético del gen CFTR mediante secuenciación ante la sospecha clínica de Fibrosis Quística cuando los métodos habituales utilizados en el laboratorio no confirman el diagnóstico

#### **MATERIALES Y MÉTODOS:**

Análisis de mutaciones frecuentes (36) del gen CFTR mediante reacción en cadena de la polimerasa e hibridación reversa. Secuenciación del gen CFTR, las secuencias obtenidas fueron sometidas a electroforesis capilar en un analizador genético ABI 3130.

#### **RESULTADOS:**

Niña de 36 meses que acude a la consulta de endocrinología infantil por fallo de medro (<percentil 3) desde los primeros meses de vida. En los últimos meses presenta diarrea con heces de aspecto brillante (esteatorrea). Se solicita cuantificación de vitamina E, vitamina A, vitamina K, cuantificación grasas en heces y test del sudor, con los siguientes resultados; vitamina E, A, y K indetectables, presencia de grasas en heces 45 mg/g heces y test del sudor positivo (85 mEq/l). Se solicita estudio genético de FQ. Se analizan 36 mutaciones con el kits comercial Innogenetics, basado en la tecnología de hibridación con sondas específicas. En este primer estudio se detectó la mutación F508 en heterocigosis, este resultado no era compatible con el diagnóstico de FQ. Ante la elevada sospecha clínica de FQ, se amplió el estudio genético realizando la secuenciación del gen CFTR. En el estudio de secuenciación se observó la presencia de dos mutaciones en heterocigosis: la mutación F508, previamente detectada con el kit comercial y la mutación c.1540 G>A en el exón 10 del gen CFTR, no detectada con el kit comercial, ambas mutaciones estaban presentes en heterocigosis. Este cambio nucleotídico está considerado como una mutación secundaria, es decir, por sí sola no es causante de la enfermedad, pero junto a otras mutaciones puede producir un efecto patológico. Por lo tanto, se confirmó el diagnóstico de FQ, con la presencia de dos mutaciones en heterocigosis.

#### **CONCLUSIONES:**

La paciente posee en heterocigosis las mutaciones c.1540 G>A y c.1653 del CTT, donde la primera de ellas es una mutación poco frecuente, no incluida normalmente en los kits comerciales de determinación de mutaciones de FQ. Por lo tanto, ante una sospecha clínica elevada de FQ y la presencia de una mutación en heterocigosis en los kits comerciales, es necesario realizar la secuenciación del gen CFTR en busca de otra posible mutación que conforme el diagnóstico.

## POLIMORFISMOS DE LA GLICOPROTEÍNA A2B1 Y DEL RECEPTOR PAR-1 EN TROMBOEMBOLISMO

Autor/a/s: Cristina Silva Pereira, Carla Soares, Fernando Mendes

Centro de trabajo: Centro Hospitalar Universitário de Coimbra, Coimbra, Portugal; Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Coimbra, Instituto Politécnico de Coimbra, Coimbra, Portugal

Localidad: Coimbra

Correo electrónico del primer firmante: fjmendes@estescoimbra.pt

### INTRODUCCIÓN:

La integrina, complejo de glicoproteína ( $\alpha 2\beta 1$ ) es un receptor de la superficie de las plaquetas que ofrece la adhesión a superficie su endotelial. Un ejemplar único gen  $\alpha 2$  se encuentra en el cromosoma 5. Variantes de alelos del gen de la subunidad  $\alpha 2$  - (ITGA2) se han asociado con bajos y altos niveles de expresión del receptor en la superficie de las plaquetas y una posible relación con la trombosis, principalmente el polimorfismo 807 C / T.

La trombina es una proteína multifactorial y actúa como un poderoso elemento de pro-coagulación: activa las plaquetas a través de receptores PAR- 1. El gen de PAR- 1 se encuentra en el cromosoma 5, tiene 2 exones y un gran intrón. Dos polimorfismos han sido identificados en la región reguladora: el -1426 C / T y una repetición 13pb (-506 E / D) Estas variaciones genéticas se han descrito en asociación con trombosis.

Objetivos: Los objetivos de este estudio fue determinar el impacto dos polimorfismos ITGA2 (807C / T) y PAR- 1 (- 1426C / T) en la población portuguesa en el Hospital Universitario de Coimbra - 2013.

### MATERIALES Y MÉTODOS:

Se estudiaran 30 pacientes con antecedentes de TEV (tromboembolismo venoso) y 16 controles. Los siguientes criterios conducen a la inclusión: la historia de TEV espontánea y sin proteína C y S anormal y sin la actividad antitrombina. Mutaciones G20210A Factor V y del gen de la protrombina fueron previamente identificadas y negativas. Los polimorfismos dos genes ITGA2 y PAR - 1 fueron genotipados después de la amplificación del ADN usando secuenciación apropiadas en ABI Prism 3130.

### RESULTADOS:

En los casos observados, 42% eran hombres y e 58 % eran mujeres, la edad media fue  $47,3 \pm 15$  y las mutaciones G20210A del factor V y del gen de la protrombina estaban ausentes. En relación ao polimorfismo 807 C / T encontramos una frecuencia de 0,43 y para C / C y T / T genotipo detectamos una frecuencia de 0,27 y 0,30 respectivamente. Las mismas frecuencias se encontraron de acuerdo ao 873 A / G dimorfismo alélico. La prevalencia do alelo 807T (52 % de los casos vs 34 % de los controles) fue mayor en los pacientes ( $p < 0,01$ ). En relación con -1426 PAR- 1 polimorfismo se encontró una frecuencia de 0,93 para C / C e 0,07 para C / T, (todos en equilibrio de Hardy- Weinberg). La prevalencia de - 1426T (7 % de los casos frente a 12 % de los controles) no fue significativamente diferente entre los grupos.

### CONCLUSIONES:

Neste estudio se observó los aspectos celulares y genéticos de las plaquetas. El alelo 807 T ITGA2 es importante en la TEV y podría ser considerar un importante marcador para VTE. Las frecuencias dos alelos y genotipos en los grupos de estudios se encontraban en equilibrio de HW y demostraron la similitud étnica con otras poblaciones caucásicas. Tal vez, los diferentes genotipos y otros eventos genéticos, podrían condicionar la regulación genética y la activación celular en el tromboembolismo.

# HEMATOLOGÍA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 006

## TRANSFUSION DE COMPONENTES SANGUINEOS EN UN HOSPITAL DE ÁREA. REVISION DE DATOS DE LOS ULTIMOS TRES AÑOS

Autor/a/s: BERGAZ LOPEZ MARIA TERESA, URBON LOPEZ CRISTINA, Dr. PADRON RIVAS VICTOR FRANCISCO, Dra. AREFI MARYAM

Centro de trabajo: HOSPITAL CLINICO UNIVERSITARIO DE VALLADOLID

Localidad: VALLADOLID

Correo electrónico del primer firmante: TEREHERE59@HOTMAIL.COM

### INTRODUCCIÓN:

El hospital clínico universitario de Valladolid atiende al área este de la ciudad, comprendiendo dicha demarcación a una población aproximada de 250000 habitantes y desarrolla numerosas actividades médico-quirúrgicas, incluyendo transplantes renal y cardiaco.

### OBJETIVOS:

Conocer a través de los datos estadísticos las características más reseñables de la práctica transfusional del centro.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

A todos los pacientes que van a ser transfundidos, se les estudia mediante:

- Tipificación sanguínea: ABO-Rh
- Escrutinio de anticuerpos irregulares (A.E.I)
- Prueba de compatibilidad (P.C)

En nuestro laboratorio usamos para ello la tecnología de Gel-Test (tarjetas BIO-RAD-DIAMET) en técnica manual. Así mismo si la P.C resulta positiva, se realiza panel de identificación de anticuerpos y/o fenotipaje de las unidades a transfundir.

Todo el manejo de los datos se vinculan a través del sistema de gestión informático de banco de sangre, que en nuestro caso es "e-DELPHYN".

Hemos querido revisar los datos estadísticos transfusionales de los últimos tres años, para ello hemos usado el módulo de estadística de nuestro programa informático.

### RESULTADOS:

- AÑO 2011: 12893 unidades de concentrados de hemáties; 2671 pacientes transfundidos; 147 anticuerpos irregulares en 5736 pacientes estudiados.
- AÑO 2012: 12378 unidades de concentrados de hemáties; 2606 pacientes transfundidos; 144 anticuerpos irregulares en 5179 pacientes estudiados.
- AÑO 2013: 12386 unidades de concentrados de hemáties; 2763 pacientes transfundidos; 115 anticuerpos irregulares en 5757 pacientes estudiados.

En nuestro hospital el mayor consumo de componentes sanguíneos, es el de hemáties, explicable en gran medida, por la actividad quirúrgica de nuestras especialidades. Así mismo los datos (cuando los hemos desglosados por especialidades) reflejan que hay aproximadamente unas 22 especialidades, que demandan terapia transfusional.

Queremos indicar que el grueso de nuestros pacientes (más del 60%) tienen edades comprendidas entre los 60 y 90 años.

Nuestra tasa de hallazgos de anticuerpos irregulares, se sitúa en el 2.43%, cifra que está en el rango descrito por numerosos autores.

En cuanto a los anticuerpos identificados, son en su mayoría dirigidos contra el sistema Rh y Kell, lo cual está en sintonía con lo publicado por otros hospitales españoles.

### CONCLUSIONES:

1. La metodología del Gel-Test en tarjetas de microcolumnas es de perfecta aplicación en banco de sangre, permitiendo el estudio de los pacientes de manera fácil y objetiva.
2. Creemos que nuestro programa de gestión informática (e-DELPHYN) con su módulo de estadística permite analizar de manera fiel y concienzuda la actividad transfusional.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 019

## DETECCIÓN PRECÓZ DE HEMOGLOBINOPATÍAS EN GESTANTES DE RIESGO, DEL ÁREA SANITARIA DE A CORUÑA

Autor/a/s: Couselo Noya, María Jesús; Núñez Amboaje, José Luis; Fernández Lago, José Carlos; Carnero Pereiro, Julia

Centro de trabajo: C.H.U.A Coruña

Localidad: A Coruña

Correo electrónico del primer firmante: maria.jesus.couselo.noya@sergas.es

### INTRODUCCIÓN:

En nuestra Área sanitaria y como consecuencia sobre todo de la inmigración, se ha producido un aumento muy significativo de hemoglobinopatías, lo que nos obliga a actualizar el sistema de control sobre este tipo de patologías.

### OBJETIVOS:

Estudiar en el Área sanitaria de A Coruña, en colaboración con Atención primaria, a todas las embarazadas de riesgo para detectar posibles mutaciones talasémicas, en cuyo caso se las derivaría a la consulta de Hematología.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

A toda embarazada de riesgo, remitida por su matrona o médico de cabecera, se le realiza un hemograma (Advia 2120 hematology systems Siemens) en busca de una microcitosis y una electroforesis de hemoglobinas (Capilarys 2 Sebia) para conocer los valores de la Hb A2 y posibles picos de una Hb anormal.

### RESULTADOS:

Durante el año 2013, hemos detectado una mutación heterocigota 3.7 y cinco mutaciones heterocigotas de Hb S.

### CONCLUSIONES:

Hemos establecido junto con Atención primaria, un protocolo de actuación que consideramos óptimo, para cribar posibles mutaciones talasémicas en gestantes de riesgo, con lo que actuamos de una manera preventiva y ofrecemos a la vez, consejo genético a la futura madre.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 029

## IMPORTANCIA DE LA DETERMINACION DE ADAMTS13 EN EL TRATAMIENTO DE LAS PURPURAS TROMBOCITOPENICAS TROMBOTICAS

Autor/a/s: JULIA RODRIGUEZ RODRIGUEZ, AURELIA BRITO JORGE, JUANA MARIA PULIDO SANTANA

Centro de trabajo: COMPLEJO HOSPITAL UNIVERSITARIO INSULAR-MATERNO INFANTIL

Localidad: LAS PALMAS

Correo electrónico del primer firmante: juliario67@hotmail.com

### RESUMEN:

La púrpura trombocitopénica trombótica (PTT) es una enfermedad caracterizada por anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia, manifestaciones neurológicas fluctuantes y trastornos renales. La oclusión de arteriolas y capilares por microtrombos compuestos fundamentalmente por plaquetas, es típica de este trastorno y consecuencia de la presencia de grandes multímeros de factor von Willebrand, presumiblemente debido a la disminución de la enzima ADAMTS13, encargada de separar estos multímeros. El diagnóstico precoz de la PTT permite un tratamiento rápido y eficaz de este trastorno, elemento decisivo para evitar la evolución fatal de estos enfermos. La presencia de anemia y trombocitopenia no explicada por otros procesos patológicos, debe hacer sospechar el diagnóstico. El recambio plasmático es la terapéutica más efectiva y se considera el tratamiento de elección de la PTT. El uso de inmunosupresores asociados con el recambio

plasmático ha sido recomendado en algunos casos. En la actualidad, el Rituximab se considera un tratamiento adicional de la PTT.

#### OBJETIVOS:

Determinar la actividad de ADAMTS13 presente en pacientes con sospecha de PTT mediante la técnica de Elisa DG-ADAMTS13 Activity

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Para la determinación utilizamos plasma humano citratado. La muestra de plasma se puede conservar durante 2 h a temperatura ambiente, puede mantenerse congelada a -20°C durante varios meses.

DG-ADAMTS13 es un test cromogénico para la determinación de su actividad en plasma humano, siendo una enzima que digiere multímeros inusualmente largos de factor von Willebrand, los cuales inducen a la formación de trombos plaquetarios bajo situación de elevado estrés.

Si la actividad de ADAMTS13 se encuentra reducida, multímeros inusualmente largos de factor von Willebrand pueden acumularse en el torrente sanguíneo provocando trombosis causadas por agregación plaquetaria, la cual a su vez puede provocar la Púrpura Trombocitopénica Trombótica (PTT).

#### RESULTADOS:

Hemos estudiado a pacientes con sospecha de PTT que se ha confirmado con la determinación de la actividad de ADAMTS13 por debajo de valores considerados normales de esta enzima, lo cual hace que el tratamiento más efectivo sean las plasmaféresis consecutivas varios días. En las siguientes determinaciones se ven como aumentan los valores de la actividad de ADAMTS13.

#### CONCLUSIÓN:

Se ha considerado que el déficit severo (<5%) de ADAMTS13 y la presencia de inhibidores de esta enzima son patognomónicos de la PTT adquirida idiopática. Algunos autores han encontrado hasta el 33% de pacientes con déficit severo de ADAMTS13. No obstante, se ha descrito casos con actividad normal de esta enzima y cuadro clínico y evolutivo de PTT, así como algunos pacientes en que la remisión de la enfermedad no se acompañaba de valores normales de ADAMTS13.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 043**

#### PROTOCOLO DE LISIS PARA UN VOLUMEN ELEVADO DE SANGRE EN CITOMETRÍA DE FLUJO.

*Autor/a/s: R. Martínez López, F. Barriopedro, D. De Miguel, I. López San Roman, N. Golbano, B. Pinedo, M. Díaz Morfa, D. Subirá.*

*Centro de trabajo: Hospital General Universitario de Guadalajara*

*Localidad: Guadalajara*

*Correo electrónico del primer firmante: ruthmartinez26@yahoo.es*

#### INTRODUCCIÓN:

La búsqueda de enfermedad mínima residual por citometría de flujo para detectar poblaciones de células que se encuentran en porcentajes del orden de 0,001% o inferiores, necesita un volumen de muestra elevado. Sin embargo, las soluciones de lisis comerciales no son capaces de lisar tanta cantidad de hematíes.

#### OBJETIVOS:

Diseñar un protocolo de lisis de hematíes para un volumen de 1 mL de sangre periférica que permita adquirir en el citómetro entre 7 y 10 millones de células.

Diseño: 1- Determinar la combinación óptima de: tipo de lisis, relación con el volumen de muestra, tiempo y temperatura de incubación. 2- Determinar la sensibilidad del protocolo para detectar poblaciones en escasa cuantía (hasta un mínimo de 15 eventos). 3- Comprobar la utilidad clínica en la búsqueda de células plasmáticas circulantes en la sangre periférica de pacientes con mieloma múltiple (MM).

Método: 1- Protocolo de lisis de hematíes: Añadir a 1 mL de sangre, 20 mL de la siguiente solución de lisis de hematíes: EDTA 0,00012 M, cloruro amónico 0,15 M, bicarbonato potásico 0,01 M (pH 7,02-7,04). Incubar 8 minutos a temperatura ambiente. Lavar centrifugando 4 minutos a 1.100 g. Realizar otro lavado con 3 mL de PBS. Resuspender el pellet en 200 microlitros de PBS. Marcar con los anticuerpos monoclonales correspondientes. Incubar 15 minutos a temperatura ambiente en oscuridad. Añadir 2 mL de lisis comercial (BDB) durante 10 minutos en oscuridad. Lavar centrifugando 4 minutos a 1.100g. Realizar otro lavado con 3

ml de PBS. Decantar y resuspender el pellet en 500 microlitros de PBS. Se adquiere todo el volumen de muestra en un citómetro FACSCanto II (BDB) y se analiza con el programa Infinicyt 1.7. 2- Aplicar dicho protocolo a una batería de diluciones seriadas de sangre (desde 1/10 hasta 1/10.000) para detectar una población patológica a una concentración inicial de 2,5%. Las diluciones se realizaron con sangre completa de un sujeto sano. 3- Aplicar el protocolo en muestras de sangre periférica en 21 pacientes con MM (9 mujeres, 12 hombres), mediana de edad 77 años (rango 46-88). Dieciséis estudios se hicieron al diagnóstico del MM, 1 durante la monitorización y 4 en la recidiva. El recuento de leucocitos osciló entre 2.050 y 10.400/microlitro (mediana: 5.510).

#### RESULTADOS:

La sensibilidad alcanzada para detectar la población patológica fue de 1/1.000 (34 eventos). En la dilución 1/10.000, el número de eventos que conformaban la población patológica quedaba por debajo del límite de detección de la técnica (12 eventos). En 13 pacientes con MM se detectaron células plasmáticas circulantes, cuyo valor osciló entre  $\geq 0,003\%$  y 13,7%. Diez pacientes tuvieron  $\geq 1$  célula plasmática de MM/microlitro. El recuento del número de leucocitos adquiridos en el citómetro al final del procedimiento es aproximadamente la mitad del recuento inicial en sangre.

#### CONCLUSIONES:

1- Al introducir de forma previa otra solución de lisis a la sangre periférica (en una relación 20:1) se garantiza la efectividad de la lisis comercial añadida con posterioridad. 2- La lisis de hematíes "no comercial" es fácil de preparar, barata y se mantiene estable a temperatura ambiente durante largo tiempo. 3- La sensibilidad alcanzada en el ensayo detecta poblaciones de 0,001%, aunque en la práctica habitual no es inferior a 0,003%. Esta diferencia está en relación con la cantidad de leucocitos en la sangre de cada paciente.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 044**

#### ELUCIÓN ÁCIDA EN LA INVESTIGACIÓN DE TEST DE ANTIGLOBULINA DIRECTO POSITIVO EN EL RECIÉN NACIDO. EXPERIENCIA EN EL CENTRO DE TRANSFUSIÓN DE GALICIA.

*Autor/a/s: Ana del Río Garrido; Sonia Roca Orosa; Ana B. Abuin Otero; Mar Alonso García; Carmen Botana Couselo; Jose Antonio Castro Fandiño; Melania Gómez Barral; Sandra Barallobre Naya y Teresa Barco Santos.*

*Centro de trabajo: Centro de Transfusión de Galicia*

*Localidad: Santiago de Compostela*

*Correo electrónico del primer firmante: ana.del.rio.garrido@sergas.es*

#### INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS:

El laboratorio de Inmunohematología del Centro de Transfusión de Galicia colabora con los Servicios de Transfusión hospitalarios, entre otros estudios, en el análisis de muestras procedentes de sangre de cordón (o de sangre periférica del recién nacido), tras el hallazgo de un "Test de Antiglobulina Directo" positivo. Mostramos nuestra estrategia de trabajo sobre muestra fetal y materna, y, en particular, el papel que juega la técnica de Elución ácida en este tipo de investigaciones.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Revisión retrospectiva de los estudios inmunohematológicos realizados, a solicitud de servicios de transfusión hospitalarios, en nuestro laboratorio, en los últimos 3 años.

Cuantificación y descripción de las investigaciones de "Test de Antiglobulina Directo Positivo" con o sin "Enfermedad hemolítica del Recién nacido".

Metodología:

1. Estudio de muestra materna:

- Grupo ABO hemático y sérico y RhD por nuestra técnica de rutina microplaca Olympus automatizada en equipo PK 7300 con reactivos Immucor. Si D Negativo, estudio de D débil por técnica en fase sólida, en equipo Neo de Immucor.
- Escrutinio de Anticuerpos Irregulares por técnica de captura en fase sólida: Capture R pool de Immucor, automatizado en equipo Neo.
- Si Escrutinio positivo: paneles de identificación. Disponemos para ello de paneles en gel (Diapanel de Biorad), para estudio en Liss Coombs o con diferentes potenciadores (Bromelina y Polietilenglicol), un panel con hematíes papainiza-

dos (Identisera Diana/Extend) y, finalmente un panel en fase sólida (Capture R ID de Immucor).

## 2. Estudio de muestra de cordón o del recién nacido:

- Grupo ABO Hemático y Grupo RhD, mediante tarjeta de gel (Biorad), automatizada en equipo ID Sampler/ID Reader. Si D Negativo se completa estudio para descartar D débil.
- Test de Antiglobulina Directo (TAD), en gel Biorad: tarjeta polivalente (Liss Coombs) y tarjeta de monoespecíficos (IgG, IgA, IgM, C3d, C3b, Control), automatizado o manual.
- Si resultado positivo, o ante un resultado negativo pero incompatibilidad ABO materno fetal evidente: elución ácida, mediante el kit DiaCidel de Biorad, siguiendo las instrucciones del fabricante. El eluido obtenido y el sobrenadante al último lavado, son ensayados en paralelo en soporte gel (Liss Coombs), frente a 11 Hematíes grupo O de panel (DiaPanel) y hematíes A1 y B comerciales a concentración ajustada (0.8%).
- Cuando sea preciso: fenotipo eritrocitario (no ABO-D) en hematíes de cordón.

### RESULTADOS:

En el período analizado, sobre un total de 159 estudios Inmunoematológicos realizados, 37 han correspondido a investigación por TAD en recién nacido. 17 han mostrado incompatibilidad ABO (anti-A: 15, anti-B: 1, anti-AB: 1), 6 al sistema Rh (anti-D: 5, anti-E:1), 1 a otros sistemas (anti-Kidd-a) y en 13 casos el estudio ha sido negativo.

### CONCLUSIÓN:

La técnica de elución ácida aplicada a la investigación de TAD positivo en el recién nacido es de fácil aplicación, incluso para personal no entrenado en el área de Inmunoematología, de rápida ejecución, y su aplicación posterior al gel facilita la interpretación de los hallazgos.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 050**

## VALORACIÓN, POR SEXO Y EDAD, DE UNA MUESTRA DE RESULTADOS DE DIMERO-D

*Autor/a/s: Quesada García, María Josefa; Hernández Asensio, Pilar; Miranda Alfaro, Gloria*

*Centro de trabajo: Hospital Santa Bárbara de Soria*

*Localidad: Soria*

*Correo electrónico del primer firmante: mjosequesada58@yahoo.es*

### INTRODUCCIÓN:

La determinación del Dímero-D (DD) es una herramienta cada vez más utilizada para el diagnóstico de trombosis y para la monitorización de terapias trombolíticas. Ha sido uno de los parámetros de la hemostasia que más interés ha despertado durante la última década. Es una de las pruebas más empleada en el laboratorio de urgencias para descartar la enfermedad tromboembólica venosa en pacientes de baja probabilidad clínica, sin embargo, en ningún caso sirve como prueba confirmativa de dicha enfermedad. El DD es una molécula de pequeño tamaño (182 kDa) que procede de la degradación de la fibrina estabilizada. Su vida media es de unas 8 horas y su principal vía de eliminación es la renal.

### OBJETIVOS:

Comparar los resultados obtenidos en una muestra de 1.036 resultados de análisis de Dímero-D, por clases de edad y sexos en muestras de pacientes ambulatorios que acuden al Servicio de Urgencias de nuestro hospital por sospecha clínica de trombosis venosa profunda (TVP) o tromboembolismo pulmonar (TEP).

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se han estudiado 1036 muestras de pacientes con las características mencionadas anteriormente, durante el año 2013, en las que se comparan los resultados por clases de edades y sexos

Los resultados se han dividido en tres grupos: < 0,50 µg/ml; 0,50 µg/ml- 2,00 µg/ml y > 2,00 µg/ml

Los grupos de edad considerados son: < de 40 años; de 40 a 65 años; de 65 a 80 años y > de 80 años.

Se determinaron en un coagulómetro STA-R (Diagnóstico Otago, Asnieres sur Sei-

ne, Francia); para ello se han utiliza un tubo de 2,7 ml de sangre con citrato sódico sometido a centrifugación durante 5 min a 3.500 r.p.m.

### RESULTADOS:

La tabla con los resultados obtenidos es la siguiente.

	< 0,50 µg/ml		0,50 µg/ml- 2,00 µg/ml		> 2,00 µg/ml		TOTAL		
	Masculino	Femenino	Masculino	Femenino	Masculino	Femenino	Masculino	Femenino	TOTAL
< 40 años	17	25	9	9	6	6	32	40	72
40-65 años	69	59	45	31	30	17	144	107	251
65-80 años	58	39	77	64	44	44	179	147	326
> 80 años	27	37	87	88	68	80	182	205	387
Total	171	160	218	192	148	147	537	499	1.036

### CONCLUSIÓN:

Analizando la tabla de resultados se pueden sacar las siguientes conclusiones:

El número de casos es mayor en hombres que en mujeres: 537 frente a 499, especialmente en los grupos de edades intermedias. Esto concuerda con la mayor prevalencia de TVP/TEP en varones.

Tanto los valores obtenidos de 0,50 µg/ml- 2,00 µg/ml y > 2,00 µg/ml van aumentando progresivamente a medida que aumenta la clase de edad en ambos sexos y es compatible con el aumento de los niveles de DD que se produce con el envejecimiento.

Sin embargo, los valores < 0,50 µg/ml son menos frecuentes a medida que aumenta la edad.

Por grupos de de edad se observa, como parece lógico, que el mayor número de casos corresponde a mayores de 80 años y el menor al de menores de 40 años.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 061**

## ESTADÍSTICA ANALÍTICA DE LA HOMOCISTEINA

*Autor/a/s: Gallardo Godoy Antonia, Martínez Balbin Elena, Muñoz Manzaneda Jose Maria, Rius Sanlleí Mercedes, Serrano Navio Maria Florencia, Martínez Palacios Gregorio*

*Centro de trabajo: Hospita Universitario San Agustín*

*Localidad: Linares (Jaén)*

*Correo electrónico del primer firmante: tonigallardo1974@hotmail.es*

### INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS:

El estudio de determinación la L-homocisteína total en plasma humano (tHcy) por técnicas de inmunoensayo en los sistemas de Coagulación de IL (ACL TOP 500). La homocisteína (Hcy), es un aminoácido, presente en el plasma ligada a proteínas plasmáticas (albúmina), reducida y en homocisteína conformando el tHcy. La Hcy es metabolizada en cisteína o metionina gracias a enzimas, cofactores o sustratos. Encontrándose elevada (hiperhomocisteinemia) en pacientes con homocistinuria, arterioesclerosis precoz y tromboembolismo arterial o venoso también de forma secundaria a enfermedades como anemias, astenia o enfermedades renales. O bien en hipohomocisteinemia siendo un factor de riesgo de tromboembolismo arterial o venosos.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Recogida de datos para el estudio de todas las peticiones con estudios de Homocisteína en tubos con citrato de sodio, realizados durante el periodo 2012/13 procediendo según técnica de inmunoensayo automatizado por turbidimetría de partículas de látex en ACL TOP 500.

Los niveles de Hcy en plasma de un paciente se pueden medirse automáticamente en los sistemas de coagulación de IL en 3 etapas:

1. Reducción de la Hcy presente en el plasma, como mezcla de forma disulfuradas y ligadas a proteínas, a Hcy libre.

2. Conversión enzimática de la Hcy libre a S-adenosil-L-homocisteína (SAH) por acción de la SAH hidrolasa (SAHH) en presencia de un exceso de adenosina.
3. Reacción de aglutinación competitiva\* del látex anti-SAH, con el SAH y el conjugado.

\*El grado de aglutinación es inversamente proporcional a la concentración de tHcy en la muestra y se determina midiendo el descenso de la luz transmitida causado por los agregados

#### RESULTADOS:

Se registraron durante el periodo 2012/13 unas 211 técnicas para el estudio de la Homocisteína de las cuales obtenemos los siguientes datos del estudio poblacional:

A- 98 son mujeres conformando el 46,44% del total (de los cuales 14 técnicas se declinaron, no procedieron), dentro de las que si procedieron deducimos los siguientes datos;

- El 8,33% son resultados altos a esta técnica, siendo positivo.
- El 82,14% son resultados dentro de los valores normales del test.
- El 9,52% son resultados bajos dentro de los valores normales.

B- 113 son hombres que conforman el resto del estudio siendo este el 53,55%(de los cuales 16 técnicas no procedieron), analizando los que procedieron los siguientes datos a saber;

- El 23,71% son positivos.
- El 71,13% están dentro de los valores normales.
- El 5,15% por debajo de VN.

\*De las 211 muestras no procedieron 30, siendo el 14,21% del total, esto es debido a que se deben de centrifugar si no se van a realizar las técnicas inmediatamente o colocar las muestras sobre hielo ya que la Hcy eleva su concentración tras la venopunción o bien transporte, extracción o tubo incorrecto.

#### CONCLUSIONES:

La introducción del test ACL TOP 500 basado en técnicas de inmunoensayo automatizado por turbidimetría de partículas de látex para la determinación de la Homocisteína en nuestro hospital pueden ayudar en el diagnóstico de múltiples enfermedades como: homocistinuria, arterioesclerosis precoz y tromboembolismo arterial o venoso también de forma secundaria a enfermedades como anemias, astenia o enfermedades renales y en el tratamiento de los pacientes sospechosos de tener hiperhomocisteinemia o homocistinuria.

Este test es sencillo, eficaz y rápido siendo los resultados obtenidos durante el periodo de Enero de 2012 a diciembre de 2013 permiten afirmar que su realización ha ahorrado tiempo, costes, así como una mayor prontitud y calidad asistencial en el diagnóstico clínico de los pacientes del hospital de linares

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 062**

#### ESTADÍSTICA ANALÍTICA DE LA ANTITROMBINA

*Autor/a/s: Gallardo Godoy Antonia, Martínez Balbín Elena, Muñoz Manzaneda José María, Rius Sanlleí Mercedes, Martínez Palacios Gregorio, Serrano Navío María Florencia*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario San Agustín*

*Localidad: Linares (Jaén)*

*Correo electrónico del primer firmante: tonigallardo1974@hotmail.es*

#### INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS:

El estudio de determinación de la antitrombina es un test cromogénico automatizado mediante sistemas de Coagulación IL (ACL TOP 500). La Antitrombina (AT) o Cofactor I de la Heparina es un inhibidor de la coagulación sanguínea, especialmente de la Trombina, F Xa y F IXa. Diagnosticar pacientes con trombofilia, accidentes tromboticos, ante la prescripción de anticonceptivos orales, síndromes nefróticos, hepatopatías y en terapias con Heparina o Antitrombina.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Recogida de datos para el estudio de todas las peticiones con estudios de Antitrombina en tubos con citrato de sodio, realizados durante el periodo 2012/13. La técnica es mediante test cromogénico automatizado ACL TOP 500. Es una técnica

basada en un sustrato cromogénico sintético y una inactivación del F Xa, el nivel de AT en el plasma es medido automáticamente en los sistemas de coagulación de IL en dos etapas;

1. Incubación del plasma con el reactivo Factor Xa en presencia de un exceso de Heparina.
2. Cuantificación\* de la actividad del Factor Xa residual con un sustrato cromogénico sintético.

\* La Paranitroanilina liberada es medida cinéticamente a 450nm siendo su nivel inversamente proporcional a la actividad de la AT de la muestra.

#### RESULTADOS:

Se registraron durante el periodo 2012/13 unas 1805 técnicas para el estudio de la Antitrombina de las cuales obtenemos los siguientes datos del estudio poblacional:

A.- 1564 son mujeres conformando el 86,64%, dentro de este deducimos lo siguiente;

- El 6,51% son resultados altos a esta técnica, siendo positivo.
- El 84,45% son resultados dentro de los valores normales del test.
- El 11,43% son resultados bajos dentro de los valores normales.

B.- 241 son hombres que conforman el resto del estudio siendo este el 13,35%, a saber;

- El 8,06% son positivos.
- El 89,51% están dentro de los valores normales.
- El 2,42% por debajo de VN.

\*De las 1805 muestras no procedieron 875 del total, esto es debido a su transporte, muestra no extraída correctamente, tubo inadecuado para su proceder o conservación incorrecta.

#### CONCLUSIONES:

La introducción del test ACL TOP 500 basado en técnicas cromogénicas automatizadas para la determinación de la Antitrombina en nuestro hospital es: sencillo, eficaz y rápido para el diagnóstico en pacientes con trombofilia, en accidentes tromboticos, ante la prescripción de anticonceptivos orales, síndromes nefróticos, hepatopatías y en terapias con Heparina o Antitrombina. Los resultados obtenidos durante el periodo de Enero del 2012 a Diciembre de 2013 permiten afirmar que su realización ha ahorrado tiempo, costes, así como una mayor prontitud y calidad asistencial en el diagnóstico clínico de los pacientes del Hospital de Linares.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 073**

#### DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE ALOANTICUERPOS ERITROCITARIOS EN EL SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL. EXPERIENCIA EN NUESTRO CENTRO

*Autor/a/s: VAZQUEZ ONTIVEROS ESPERANZA, DE COZAR PEREA MARIA ANGELES, CAMACHO AMADO EVA MARIA, DURAN CABRAL JOSE MARIA, GONZALEZ SILVA MANUEL.*

*Centro de trabajo: HOSPITAL COMARCAL DE LA LINEA DE LA CONCEPCIÓN*

*Localidad: LA LINEA DE LA CONCEPCION*

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

#### OBJETIVOS:

La aparición de anticuerpos dirigidos contra antígenos eritrocitarios se puede producir tras la transfusión de hemáties y durante las gestaciones. Para su detección se realiza una primera fase de escrutinio (EAI). Si este cribado muestra resultados positivos se procede a una identificación del anticuerpo (IAI).

La detección de aloanticuerpos constituye una parte fundamental de la actividad de un Servicio de Medicina Transfusional ayudando a realizar una práctica transfusional segura y a evitar la aparición de enfermedad hemolítica del Recién Nacido.

El objetivo del estudio es analizar los resultados obtenidos en nuestro centro en cuanto a detección e identificación de aloanticuerpos en receptores y mujeres gestantes.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Para la obtención de los datos se han revisado los archivos en formato papel y en

formato informático (aplicación informática BLUE Grifols). Todos los estudios se realizan con técnica de aglutinación en gel (Diana Gel) y con las células de cribaje Serascan Diana 2 y los paneles de identificación Identisera Diana e Identisera Diana P (papainizados).

## RESULTADOS:

En los 5 años revisados se han realizado 9839 escrutinios de anticuerpos irregulares en mujeres gestantes y 5759 escrutinios en receptores. Se han encontrado 166 estudios positivos en las gestantes lo que supone un 1,69% y 143 estudios positivos en receptores lo que representa un 2,48% del total.

La distribución de los aloanticuerpos detectados en los escrutinios se refleja en la siguiente tabla:

ANTICUERPO	GESTANTE	PRETRANS-FUS.		1998-2007	2008-2012
Anti-D	108	13	EAI gest.	17648 (1764/a)	9839 (1968/a)
Anti-E	4	30	IAI gest.	402 (2.28%)	166 (1.69%)
Anti-e	1		EAI pretr	8792 (879/a)	5759 (1151/a)
Anti-C	15	9	IAI pretr	111 (1.26%)	143 (2.48%)
Anti-c	4	1			
Anti-Kell	6	1			
Anti-Jka/Jkb	1 / 2				
Anti-S	1	3			
Anti-Fya		1			
Anti-Kpa		3			
Anti-Lewis (a) /Lewis (b)		1			
Anti-M	15	2			
Sin identificar	7	47			
TOTAL	Sin identificar	143			

## CONCLUSIONES:

Los resultados muestran una distribución de identificación de aloanticuerpos donde predominan en las gestantes la detección de anti-D por la administración en la semana 28 de gestación de una dosis de gammaglobulina anti-D. También destaca en este grupo la presencia de anti-M y anti-C.

En el grupo de estudios pretransfusionales el aloanticuerpo más frecuentemente detectado es el anti-E y en segundo lugar el anti-Kell. También destaca en este grupo el número de identificaciones no concluyentes (30% de los positivos).

Comparando la revisión actual con la serie histórica destaca el incremento porcentual de los EAI en los dos grupos.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 074**

### ESTUDIO DE LA IMPLANTACIÓN DEL SISTEMA AUTOMATIZADO DE DETERMINACIONES INMUNOEMATOLÓGICAS IH-1000 EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE VALME DE SEVILLA

*Autor/a/s: CONSUELO LAPUEBLA VIEL, DOLORES GARCIA RODRIGUEZ Y MARIA DEL PATROCINIO MONGE CAMACHO.*

*Centro de trabajo: HOSPITAL DE VALME SEVILLA*

*Localidad: SEVILLA*

*Correo electrónico del primer firmante: ansares1991@gmail.com*

## INTRODUCCIÓN:

Los avances en la biotecnología, así como el aumento de la demanda asistencial, ha hecho que los procedimientos diagnósticos hayan tenido que adaptarse a las necesidades del Sistema Sanitario, siendo la automatización la solución más eficaz a los mismos, aunque en áreas como la inmunohematología ha resultado más ardua su implantación.

## OBJETIVO:

Evaluar y dar a conocer la experiencia de implantación del sistema automatizado

IH-1000 (Bio-rad) en nuestro servicio desde Enero del año 2013.

## METODOLOGIA:

Se trata de un estudio descriptivo y comparativo con el sistema semiautomático Techno en funcionamiento desde Enero de 2013. Estableciendo diferentes parámetros de seguridad, calidad y eficiencia del sistema.

## RESULTADOS:

PARAMETROS	TECHNO	IH-1000
Fiabilidad (QC) Interna	100 %	100 %
Sistema de Identificación	Correcto	Correcto
Rapidez	Dos centrífugas	Tres centrifugas
Interpretación de Resultados	Validación manual	Validación automáticas de muestras, sin discrepancias
Volcado de Resultados	Manual	Automático
Gestión/Manejo	Fácil	Requiere formación
Mantenimiento	Mínimo	Mínimo
Prestaciones	Determinaciones individuales, no admite urgencias	Multideterminaciones. Intercala determinaciones urgentes
Autonomía	La necesaria para las determinaciones en curso	Gran cantidad de determinaciones
Integración en rutina de trabajo	No adaptación	Adaptación de todos los procesos

## CONCLUSIONES:

1. La automatización favorece la rentabilidad de los recursos y una adecuada respuesta a la demanda asistencial
2. Requiere formación y compromiso de todo el equipo profesional
3. Garantiza la seguridad de los profesionales y la calidad de los **RESULTADOS:**

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 079**

### ANTI-D EN EMBARAZADAS

*Autor/a/s: GARCIA GARCIA MARIA JOSE Y DIAZ VALDES MARIA JOSE*

*Centro de trabajo: COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO A CORUÑA (CHUAC)*

*Localidad: LA CORUÑA*

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

## RESUMEN:

ANTI-D EN EMBARAZADAS

## INTRODUCCIÓN:

No existen anticuerpos naturales Anti-D frente a antígenos RH, éstos surgen, bien por, transfusiones de sangre RH(+) o por embarazos de fetos RH(+).

Hoy en día y por protocolo a todas las embarazadas RH(-) se les administra profilaxis en las 28 semanas de gestación (inmunoglobulina Anti-D) para evitar posibles complicaciones.

## OBJETIVOS:

Evaluar y constatar la presencia de Anti-D (secundario a la profilaxis recibida) en el momento del parto.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realiza análisis retrospectivo de 20 mujeres Rh(-) buscadas en el SIL de laboratorio durante un periodo del año 2013, a las que se sensibilizó con la inmunoglobulina Anti-D.

En el servicio de transfusiones se realiza grupo sanguíneo e investigación de anticuerpos en el 1º, 2º y 3º trimestre de embarazo y en el momento del parto, titulando el anticuerpo si es elevado.

Al recién nacido se le analiza el grupo sanguíneo y el combs directo.

Se realiza en el AUTOVUE de Ortho.

#### RESULTADOS:

De 20 madres estudiadas, 15 de ellas tienen anticuerpo Anti-D en el momento del parto; en 5 de ellas ocurrió transferencia pasiva al recién nacido, evidenciándose un combs directo positivo y un efuido con anticuerpos Anti-D.

#### CONCLUSIÓN:

En el 75% de las mujeres que recibieron profilaxis en el 2º trimestre de embarazo, persistió la inmunización de esta en el momento del parto y el 33% de los recién nacidos presentan combs directo positivo con presencia de anticuerpos Anti-D.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 101**

### ISOAGLUTININAS Y TRASPLANTE RENAL ABO INCOMPATIBLE

*Autor/a/s: MARIA JOSE DIAZ VALDES, MARIA JOSE GARCIA GARCIA*

*Centro de trabajo: COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO A CORUÑA*

*Localidad: LA CORUÑA*

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

#### INTRODUCCIÓN:

Las isoaglutininas (anti-A y anti-B), son anticuerpos naturales que tiene nuestro organismo. En Trasplante renal ABO incompatible, con títulos de isoaglutininas elevados en el receptor, estas pueden descender mediante recambios plasmáticos y llegar a niveles adecuados para poder realizar el trasplante. De ahí la importancia de titular las isoaglutininas del receptor.

#### OBJETIVO:

Se realizó un estudio para correlacionar el número de recambios plasmáticos realizados y el título de isoaglutininas basales.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Periodo analizado: año 2013. Búsqueda de datos en SIL (sistema informático de laboratorio) de banco de sangre. Se realizó en cuatro pacientes recambio plasmático y titulaciones de isoaglutininas pre y pos-proceso. Estas titulaciones se cuantifican mediante diluciones seriadas (en PBS y suero de paciente) enfrentándolos a hemáties comerciales A o B según grupo del donante y el receptor. Se procesa en el analizador Ortho autovue system.

#### RESULTADOS:

En dos de los pacientes se hacen recambios plasmáticos y cuantificación de isoaglutininas durante un máximo de dos semanas, mientras que en los otros dos durante un mes. Los dos primeros tenían títulos basales más bajos que los que tardaron más tiempo en tenerlos aceptables para el trasplante.

#### CONCLUSIÓN:

A menos títulos basales de isoaglutininas menos procesos de recambios plasmáticos acortándose

El tiempo para realizar el trasplante.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 110**

### INCIDENCIA TRANSFUSIONAL EN PACIENTES ONCO-HEMATOLÓGICOS EN FUNCIÓN DE LOS PARÁMETROS DE HEMOGLOBINA Y DE NÚMERO DE PLAQUETAS.

*Autor/a/s: RODRÍGUEZ LÓPEZ-MOSQUERA CARLOS, VARELA COSTA MARÍA DEL CARMEN, CASTRO TERSADO MARÍA LUISA, NUÑEZ ASCARIZ MARÍA JOSÉ, LOSADA BALIÑA MARÍA DEL CARMEN*

*Centro de trabajo: HULA*

*Localidad: LUGO*

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

#### INTRODUCCIÓN:

Debido a los problemas de escasez y disponibilidad del número de concentrados de hemáties y de plaquetas en banco de sangre y la imposibilidad de reservar sangre y dar plaquetas a todas las peticiones recibidas, incluidas las onco-hematológicas, se hace imprescindible hacer un cribado previo para priorizar dichas peticiones.

#### OBJETIVO:

Queremos determinar los rangos críticos de valores de hemoglobina y de número de plaquetas en los cuales los pacientes onco-hematológicos, son susceptibles de ser transfundidos mayoritariamente, para lograr una mayor eficacia en la gestión del banco de sangre.

#### MATERIAL:

Para la determinación de hemoglobina y de número de plaquetas hemos utilizado muestras de sangre periférica de los pacientes en tubos con EDTA K3 y que han sido analizados en el servicio de hematimetría usando para ello el Coulter LH 780.

También hemos usado los sistemas informáticos del banco de sangre e-Delphin y los volantes de peticiones de concentrado de hemáties y de plaquetas del HULA.

#### MÉTODO:

Hemos revisado 46280 muestras de pacientes onco-hematológicos durante un período de ocho meses (1/01/13-31/08/2013), tanto hospitalizados como ambulantes,

Paralelamente hemos seleccionado dichas analíticas en función de los valores de hemoglobina y de número de plaquetas y las hemos cotejado con las peticiones de banco de sangre, comprobando cuales habían sido transfundidas y cuáles no.

#### RESULTADOS:

De las 46280 analíticas revisadas, hemos seleccionado las que mostraban valores de hemoglobina menores a 10 g/dl. y un número de plaquetas inferiores a 50.000/mm<sup>3</sup>, obteniendo un total de 1870 muestras con las que hemos realizado el estudio y que han arrojado los siguientes **RESULTADOS:**

##### RANGOS DE HEMOGLOBINA.

ENTRE 4 g/dl y 6 g/dl se han obtenido un total de 16 muestras de las cuales se han transfundido 12 (75 %) y no se han transfundido 4 (25 %).

ENTRE 6 g/dl y 8 g/dl se han obtenido un total de 256 muestras de las cuales se han transfundido 196 (76.56 %) y no se han transfundido 60 (23.44 %).

ENTRE 8 g/dl y 10 g/dl se han obtenido un total de 1176 muestras de las cuales se han transfundido 180 (15.30 %) y no se han transfundido 996 (84.70 %).

##### RANGOS DE NÚMERO DE PLAQUETAS.

< 10.000 PLAQUETAS se han obtenido un total de 108 muestras de las cuales se han transfundido 86 (79.62 %) y no se han transfundido 22 (20.38 %).

ENTRE 10.000 y 20.000 PLAQUETAS se han obtenido un total de 106 muestras de las cuales se han transfundido 66 (62.26 %) y no se han transfundido 40 (37.34 %).

ENTRE 20.000 y 50.000 PLAQUETAS se han obtenido un total de 208 muestras de las cuales se han transfundido 0 (0 %) y no se han transfundido 208 (100 %).

#### CONCLUSIONES:

Que parece claro que el valor de 8 g/dl de hemoglobina es un valor crítico determinante para transfundir a un paciente onco-hematológico ya que por debajo de ese valor han sido transfundidos 208 pacientes de un total de 272 lo que indica un porcentaje del 76,47 %.

En cambio el valor umbral crítico en el número de plaquetas parece ser de 20.000/mm<sup>3</sup> donde de 214 pacientes han sido transfundidos 152 lo que representa un 71.02 %.

También cabe destacar que en 208 pacientes cuyo número de plaquetas estaban entre 20.000 y 50.000, no se haya transfundido ninguno, así como el bajo número de transfusiones entre los 1176 pacientes cuyas hemoglobinas estaban entre 8 g/dl y 10 g/dl siendo transfundidas sólo 180 del total cuyo porcentaje es del 15.30%.

**SEGUIMIENTO DEL QUIMERISMO ERITROCITARIO EN EL TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS CON INCOMPATIBILIDAD ABO**

*Autor/a/s: Galán Arribas Yolanda, Blanco Borrego Ana Valentina, Guerrero Cervera Ana Rosa, Noguero Novella Pilar.*

*Centro de trabajo: UGC Hematología Hospital Universitario Virgen del Rocío*

*Localidad: Sevilla*

*Correo electrónico del primer firmante: ygay1484@yahoo.es*

**INTRODUCCIÓN:**

En el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (TAPH) de sangre periférica o médula ósea, la sustancia A y B tiene gran importancia ya que está ampliamente representada en los hematíes y en varios tejidos del organismo.

Cuando entre donante y receptor existe incompatibilidad ABO hay que conocer las complicaciones que pueden producirse y realizar un control riguroso del paciente pre y postrasplante. Las células progenitoras van producir nuevos hematíes de distinto grupo a los del receptor (quimera eritrocitaria), existiendo etapas intermedias en las que conviven las dos poblaciones (quimera mixta) hasta el cambio completo de grupo (quimera completa). Existe incompatibilidad mayor (IM) cuando hay anticuerpos en el receptor frente a las células del donante y menor (Im) en caso contrario.

En la IM puede darse eritroblastopenia postimplante por persistencia de aglutininas incompatibles y en la Im la aparición de anti A ó anti B inmunes con Coombs Directo (CD) positivo y hemólisis pasajera durante el primer mes postrasplante.

Objetivos: Seguimiento protocolizado de todos los pacientes con TAPH con Incompatibilidad ABO. Valoración de dobles poblaciones (quimera eritrocitaria mixta) hasta cambio total de grupo. Detección de los problemas inmunohematológicos y adecuación de la hemoterapia en casa fase de trasplante.

**Material y Metodología:**

19 paciente sometidos a 21 TAPH con incompatibilidad ABO desde el año 2012, 12 con IM y bidireccional y 7 con Im. Se realiza grupo ABO y Rh, aglutininas en suero y escrutinio de anticuerpos de forma automatizada mediante el instrumento IH-1000 (Bio-Rad) con tarjetas Gel-Test.

Se obtienen registros gráficos.

Se estudia de forma protocolizada una muestra pretrasplante de donante y receptor y todas las muestras que llegan al Banco de Sangre para trasfusión en el postrasplante. Los pacientes con IM son transfundidos desde el tratamiento de acondicionamiento con hematíes del grupo del receptor hasta el cambio total de grupo y los paciente con Im con sangre del grupo del donante.

**RESULTADOS:**

Se ha evidenciado quimera completa en 7 de los 12 pacientes con IM y bidireccional (rango 3-9 meses) Grafico I

No se produce la quimera mientras persisten aglutininas incompatibles A ó B. Grafico II

En 7 pacientes con Im se obtiene el cambio de grupo en 6 y de forma más rápida (rango 1-3 meses) grafico. Dos presentaron CD positivo por anti A inmune. Grafico III

**CONCLUSIONES:**

El estudio de las muestras pretrasfusionales de pacientes con TPH e incompatibilidad de grupo ABO obtenidos con el instrumento IH-1000, nos proporciona un registro gráfico de las dobles poblaciones de hematíes ABO y la existencia de aglutininas en suero. Es una forma sencilla, clara y evolutiva de cómo se produce el quimerismo eritrocitario.

Permite adaptar el grupo de la sangre y plaquetas a trasfundir en cada momento del postrasplante.

y detectar posibles eritroblastopenias por persistencia de aglutininas incompatibles en la IM.

**PSEUDOTROMBOCITOPENIA DEPENDIENTE DE EDTA**

*Autor/a/s: ESHER MIRANDA ROLDÁN, IRENE CHICA MORAL, MIGUEL ÁNGEL GONZÁLEZ AGUILAR*

*Localidad: CADIZ*

*Correo electrónico del primer firmante: esther.miranda.87@hotmail.com*

**INTRODUCCIÓN:**

La pseudotrombocitopenia por agregación dependiente del EDTA (ácido etilendiamino tetraacético) es la manifestación de un recuento bajo de plaquetas en muestras anticoaguladas con EDTA y procesadas en autoanalizadores, por la formación de agregados plaquetarios in vitro. Es importante su identificación ya que carece de significación patológica. Producida por la formación de agregados plaquetarios en presencia del anticuerpos IgG, IgM e IgA.

Se trata de un fenómeno poco frecuente que se da tanto en pacientes sanos como enfermos con una incidencia del 0.1% al 0.29%.

**MATERIALES Y MÉTODOS:**

El objetivo de este trabajo es el de valorar la importancia que tiene el diagnóstico correcto y rápido de una pseudotrombocitopenia dependiente de EDTA para lo cual vamos a describir nuestra experiencia con un caso clínico visto en nuestro laboratorio de urgencias.

**RESULTADOS:**

Caso Clínico: Paciente de 44 años que acude a urgencias por disuria y dolor en fosa renal izquierda de 24 horas de evolución, en la exploración física destaca un puño-percusión renal izquierda positiva.

Se solicita una analítica de urgencias en la que se observa una cifra de plaquetas de 80.000/mcL ante la ausencia de cifras anteriores de trombopenia se repite el recuento de plaquetas en tubo de citrato obteniendo entonces una cifra de 200.000/mcL lo que permitió diagnosticar un fenómeno de pseudotrombocitopenia por EDTA.

Del resto de la analítica de urgencias, tanto la bioquímica como la coagulación fueron normales, en la analítica de orina aparecen de 15 a 20 hematíes por campo. Ante los resultados obtenidos y la exploración clínica se diagnóstico al paciente de un cólico renal no complicado, dándole de alta el mismo día con tratamiento domiciliario y buena evolución tras revisión posterior en 7 días por su médico de cabecera.

**CONCLUSIONES:**

La Pseudotrombocitopenia por agregación plaquetaria por EDTA, es un fenómeno que debe de considerarse siempre al realizar el diagnóstico diferencial de trombocitopenia, ya que puede confundir al clínico, y llevar a acciones iatrogénicas, existiendo casos descritos en la literatura de transfusiones urgentes de plaquetas e incluso pacientes esplenectomizados.

El diagnóstico diferencial se realiza mediante la repetición del hemograma en tubo de citrato y realizando una extensión de sangre periférica en la que se observan agregados plaquetarios.

**ESTUDIO ANUAL DE LA PRUEBA DE LA ANTIGLOBULINA DIRECTA**

*Autor/a/s: Serrano Fernández, María Inés; Navarro Plaza, Ana Flor; Garcia Tirador, Francisco; Morales Ruiz, José; Mansilla Pellejero, Sara.*

*Centro de trabajo: Hospital Virgen de la Nieves*

*Localidad: Granada*

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

**INTRODUCCIÓN:**

El Coombs Directo (CD) o prueba de la antiglobulina directa, permite detectar la presencia de anticuerpos fijados a la superficie del hematíe. Se utiliza para la detección de hematíes sensibilizados "in vivo" por inmunoglobulinas o fracciones de complemento, siendo esto de vital importancia para el diagnóstico del cuadro clínico.

**MÉTODO:**

Estudio de carácter retrospectivo de enero a diciembre de 2013, en el que se han realizado un total de 5556 determinaciones de Coombs Directos en el Servicio de

transfusión del Hospital Virgen de la Nieves de Granada. Dichas determinaciones proceden de: Estudios Pre-transfusionales, Estudios de Anemias y Estudios de Recién Nacidos.

En el caso de CD poliespecíficos positivos, se precisa un posterior estudio de mono-específicos, según protocolo establecido en el servicio.

#### MATERIAL:

El estudio de CD poliespecíficos se hace de manera automatizada con ayuda del AutoVie (Ortho Medical), para lo cual se usan tarjeta de aglutinación en columna en esferas de cristal (tecnología CAT). El estudio de Mono-específicos se realiza de manera manual, utilizando para ello, tarjetas de gel de gelosa Dianagel, identificando el tipo de anticuerpo existente (Anti-IgG, anti-IgM, anti-IgA, anti-IgG-Cd3d, anti- C3d-3b y anti-C3d).

#### RESULTADOS:

En el año 2013 se realizaron un total de 3589 Coombs directos, de los cuales 420 dieron positivo. 354 eran casos ya diagnosticados, mientras que 66 eran casos nuevos de CD positivos a los que se les realizó el estudio de mono-específicos, obteniendo los siguientes resultados.

- 40 (60.6%) por IgG+C3d
- 13 (19.7%) por IgG
- 11 (16.7%) por C3
- 3 (4.4%) por IgG +IgM o IgA ya que raramente aparecen solos.

#### CONCLUSIÓN:

El 60.6% de los anticuerpos encontrados con mayor frecuencia es IgG+C3d responsables de anemias autoinmunes por anticuerpos calientes.

La técnica de CD y CD mono-específica es sencilla, rápida y de gran utilidad diagnóstica.

El sistema de automatización AutoVue, presenta falsos positivos, debido a la presencia de fibrina, por lo que se repite la prueba de manual en tubo. En este caso el reactivo utilizado es Anti-IgG+C3d

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 132**

### EVALUACIÓN DEL AUTOANALIZADOR HEMATOLÓGICO UNICEL DXH 800 COULTER

*Autor/a/s: Alonso Díez José Antonio; López Cerecedo María Sally; Fuertes Nuñez Marta*

*Centro de trabajo: Complejo Asistencial Universitario de León (CAULE)*

*Localidad: LEÓN*

*Correo electrónico del primer firmante: jose22alonso@hotmail.es*

#### INTRODUCCIÓN:

En el laboratorio de urgencias se incorpora un nuevo autoanalizador hematológico, Unicel® DxH™ 800 Coulter®. (Beckman). Frente a ese cambio se realiza un estudio de correlación de resultados con el autoanalizador utilizado hasta el momento: el Coulter® LH750 (Beckman).

#### OBJETIVO:

Evaluar la imprecisión intra e interserial, linealidad y arrastre del DxH 800 así como la correlación con el LH 750, comprobando si existen diferencias significativas entre ambos autoanalizadores y si éstas afectan al significado clínico.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

La determinación de la imprecisión intraserial se realizó procesando 10 veces consecutivas muestras de valores normales y patológicos. Para la imprecisión interserial se utilizaron los 3 niveles de controles comerciales Coulter® 6C procesándolos durante 35 días consecutivos. Los parámetros analizados fueron eritrocitos (ERI), hemoglobina (Hb), Volumen Corpuscular Medio (VCM), plaquetas (PLT), leucocitos (LEU), % neutrófilos (NEU), % eosinófilos (EOS), % linfocitos (LIN), % monocitos (MON), % reticulocitos (RET). Se calculó el coeficiente de variación (CV) para cada caso.

En el estudio de la linealidad se realizaron diluciones seriadas, con diluyente Coulter DxH, de muestras de pacientes con valores altos en ERI, LEU, Hb, y PLT y de muestras con valores bajos en LEU y PLT. La linealidad fue evaluada mediante la regresión de Passing-Bablok del programa Medcalc.

Se analizó el arrastre de los parámetros ERI, LEU, Hb y PLT procesando por triplicado muestras con elevadas concentraciones (H1, H2, H3) seguidas de 3 muestras de diluyente (D1, D2, D3). El % de arrastre fue calculado mediante la fórmula:  $(D1 - D3) / (H3 - D3) \times 100$ .

En la correlación de métodos, se procesaron simultáneamente 200 muestras de pacientes, comparando los datos obtenidos del LH750 con respecto a los del DxH 800 para los parámetros ERI, Hb, VCM, Ancho de Distribución Celular (ADE), PLT, LEU, %NEU, %LIN, %MON, %EOS, %RET. Para esta comparación los métodos estadísticos utilizados han sido el coeficiente de correlación (r) y la regresión de Passing-Bablok con el intervalo de confianza del 95% (IC95%) para el intercepto y la pendiente.

#### RESULTADOS:

1) La imprecisión intraserial mostró CV < 2% para todos los parámetros del hemograma estudiados excepto para valores bajos de PLT en la que se obtuvo un CV de 2,99%. En el recuento diferencial leucocitario automatizado (RDLA) los CV oscilan entre el 0,3% de los NEU en valores altos y el 8,95% de los EOS en valores bajos. Para los RET obtenemos un CV de 3,79% en valores altos y un 14,35% en valores bajos. Los CV de la imprecisión interserial confirman el estudio de la imprecisión intraserial: CV < 2% para el hemograma, CV de la RDLA entre el 1,15% en los NEU y el 15,33% en los EOS en valores bajos y para los RET un 2% en valores altos y un 9,87% en valores bajos.

2) Se obtuvo una excelente linealidad, con diferencias mínimas entre los valores esperados y obtenidos y con rectas de regresión próximas a

$y = x$ .

3) El arrastre fue inferior a 0,2% en todos los parámetros cumpliendo con las especificaciones del fabricante.

4) El análisis comparativo de los resultados obtenidos entre el DxH 800 y el LH 750 se muestra en la siguiente tabla:

Parámetros	Intervalo de medidas	Recta de Regresión (X=LH750 - Y=DxH800)	IC 95% intercepto	IC 95% pendiente	Coefficiente Correlación (r)	Correlación
Hematíes	1,16 - 6,57	$Y = 0,00 + 1,00 * X$	-0,03 - 0,03	1,00 - 1,01	0,998	Correlación
Hemoglobina	3,9 - 21,3	$Y = -0,14 + 1,02 * X$	-0,23 - (-0,04)	1,01 - 1,03	0,998	Error constante y proporcional
VCM	3,4 - 140,0	$Y = -3,53 + 1,02 * X$	-4,99 - (-2,10)	1,00 - 1,03	0,995	Error constante
ADE	12,4 - 26,3	$Y = 1,32 + 0,90 * X$	0,98 - 1,70	0,87 - 0,92	0,991	Error constante y proporcional
Plaquetas	8 - 1693	$Y = 0,82 + 0,96 * X$	-1,00 - 2,90	0,95 - 0,98	0,996	Error proporcional
Leucocitos	0,1 - 118,4	$Y = -0,07 + 1,01 * X$	-0,14 - 0,00	1,00 - 1,02	1,000	Correlación
% Neutrófilos	17,6 - 97,0	$Y = -0,54 + 1,00 * X$	-1,06 - (-0,03)	0,99 - 1,00	0,998	Error constante
% Eosinófilos	0,1 - 12,7	$Y = 0,03 + 1,00 * X$	0,01 - 0,07	0,97 - 1,01	0,994	Error constante
% Linfocitos	1,5 - 79,0	$Y = -0,12 + 1,00 * X$	-0,21 - 0,07	0,99 - 1,01	0,998	Correlación
% Monocitos	0,5 - 21,1	$Y = 0,25 + 1,04 * X$	0,03 - 0,46	1,01 - 1,08	0,971	Error constante y proporcional
% Reticulocitos	0,25 - 10,23	$Y = 0,26 + 1,00 * X$	0,20 - 0,31	0,95 - 1,05	0,950	Error constante

Existe una excelente correlación para ERI, LEU, %LIN. Para los demás parámetros obtenemos una correlación menor pero sin repercusión clínica significativa.

Conclusión:

La evaluación mostró unos resultados muy aceptables para la imprecisión intra e interserial, la linealidad y el arrastre. En la comparación de métodos, los parámetros estudiados pueden ser medidos en cualquiera de los dos autoanalizadores con significado clínico equivalente.

### DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDAD VON WILLEBRAND CONGÉNITA: COMPARACIÓN DE DOS METODOLOGÍAS Y ANÁLISIS DE LAS DISCREPANCIAS.

Autor/a/s: Iglesias Lema, María Teresa; Gestal Gómez, Pilar; Echeverría Mecoleta, Pilar; Carnero Pereiro, Julia; Couto Mirás, María José; Robles Navarro, Mercedes.

Centro de trabajo: C.H.U A Coruña

Localidad: A Coruña

Correo electrónico del primer firmante: soytil@yahoo.es

#### RESUMEN:

Diagnóstico de enfermedad von Willebrand congénita: comparación de dos metodologías y análisis de las discrepancias.

#### INTRODUCCIÓN:

El diagnóstico de la enfermedad de von Willebrand (EVW) incluye la evaluación de la actividad del factor VIII coagulante (FVIII), cuantificación del antígeno del factor von Willebrand (VWF:Ag) y actividad del FVW como cofactor de la ristocetina (VWF:RCo) además de otras pruebas más específicas como son el análisis multimérico y el análisis genético que son necesarios para la correcta clasificación de esta enfermedad. El analizador ACL AcuStarTM introduce la tecnología de la quimioluminiscencia (QL) en la detección de la EVW con ensayos los automatizados del VWF:Ag y VWF:RCo.

#### OBJETIVOS:

En este trabajo se compara los métodos FVW:Ag-ELISA y VWF:RCo por agregometría convencional con los nuevos ensayos de QL, FVW:Ag-IL y VWF:RCo-IL y se investiga la posibilidad de realizar diagnósticos más precisos de EVW y su concordancia con los análisis multiméricos y genéticos.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se incluyeron 146 pacientes con EVW congénita (51 Tipo 1 ; 34 Tipo2A; 16 Tipo 2B; 31 Tipo 2M; 5 Tipo 2N; 9 Tipo 3) y 30 sujetos sanos. Se realizó una comparación entre QL y métodos convencionales. La evaluación diagnóstica incluía: VWF:RCo:VWF:Ag ratio, distribución multimérica del FVW (en gel de agarosadodecil sulfato sódico [SDS]) y análisis genético en 110 de 146 pacientes.

#### RESULTADOS:

La QL y los métodos convencionales revelaron una buena correlación. El valor diagnóstico del test Kappa fue >0.8. La sensibilidad diagnóstica de la QL era 100% y la especificidad 97%. El análisis multimérico y genético fueron de ayuda para aclarar 13 discrepancias diagnósticas entre ambos métodos, de las cuales 6 fueron explicadas por la escasa sensibilidad de los métodos convencionales.

#### CONCLUSION:

La metodología de QL puede detectar EVW y discriminar entre tipo 1, 3 y formas variantes y además es un método automatizado, más rápido, sensible y menos engorroso cuando se compara con los ensayos convencionales, en particular con el VWF:RCo por agregometría. En algunos casos, incluso con todo el análisis fenotípico y genotípico realizado, existen discrepancias en la clasificación de la EVW.

### EVALUACION DEL FRACCIONADOR DE COMPONENTES SANGUINEOS "MACOPRESS SMART REVO"

Autor/a/s: Delgado Vega, Azucena. Vazquez, Marcos. Garcia, Maria Soledad. Guillan, Juan. Fuentes, Beatriz. Iglesias, Marisol. Lopez, Maria. Varela, Jose. Lourido, Lidia. Rodriguez, Fernando. Perez, Lucía.

Centro de trabajo: Centro de Transfusión de Galicia

Localidad: Santiago de Compostela

Correo electrónico del primer firmante: azucena.delgado.vega@sergas.es

#### RESUMEN:

La introducción de mejoras en el procesamiento de la sangre total, permite op-

timizar la eficiencia y también la consistencia de los resultados en los componentes sanguíneos obtenidos. El objetivo de evaluar este sistema es analizar su funcionamiento y la calidad de los componentes obtenidos en los dos tipos de bolsas utilizados en nuestro centro: 1) Bolsa de sangre total (ST) con filtro para ST (Leucoflex LXT), no obtención de plaquetas y 2) bolsa top&bottom (Leucoflex LCR Diamond), con filtro en línea para hematíes y obtención de buffy coat (BC) como fuente de plaquetas.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se fraccionaron un total de 120 unidades configuración top&bottom, kit de bolsa referencia LQT6284LS. Se tomaron registros de pesos de ST, concentrados de hematíes (CH), plasma y BC. Se hicieron recuentos celulares (Sysmex XT-2000i) en 56 concentrados de hematíes y 42 BC.

También se elaboraron 12 C. de plaquetas (a partir de 5 BC), siguiendo la sistemática habitual, es decir unión de 5 BC isogrupo suspendidos en solución aditiva, SSP plus, siendo la ratio plasma/SA de 35/65 aproximadamente. Se procesaron con el sistema Orbisac® lo que nos proporciona una unidad terapéutica final leucodeplecionada.

#### RESULTADOS:

Los datos obtenidos se reflejan en las siguientes tablas:

Concentrado de hematíes	Plasma	Buffy coat					
Volumen n=120	Hb total n=56	Hto % n=56	Volumen n=120	Volumen n=120	Hto % n=42	PQx1011 n=42	
262 ± 17	51.8 ± 4.7	60.8 ± 2	278 ± 18	54 ± 5.8	40 ± 6	0.96 ± 0.3	

Poolos (5 BC), n=12

Volumen (ml)	PQx109/L	PQ totalesX10 11
375.9 ± 9.7	1022.6 ± 146	3.86 ± 0.5

La cifra de leucocitos residuales tanto en CH como en CP es menor de 1x10<sup>6</sup>

En las dos configuraciones se obtienen productos que cumplen las especificaciones recomendadas, en cuanto al plasma señalar que se consigue un producto sin presencia de aire.

Las ventajas de este sistema de fraccionamiento es la apertura automática de las cánulas tanto en sangre total como en CH, la posibilidad de agitación/ mezcla de los hematíes con la solución aditiva durante el proceso de separación que podría aportar ciertas ventajas como menor hemólisis y ausencia de coágulos.

#### CONCLUSIÓN:

Los datos obtenidos con las bolsas que se usan en rutina y el fraccionamiento Macopress Smart Revo son muy óptimos tanto en términos de recuperación de volumen y riqueza en los componentes, como en la dinámica de manejo.

### VALORACION DEL ALARGAMIENTO DEL TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ACTIVADA EN PACIENTES SIN PATOLOGIA PREVIA

Autor/a/s: González Laguna, Soraya; Machado González, M<sup>a</sup> Ángeles; Magdalena Bobes, Ricardo; Rodríguez García, José Antonio; Pérez Gutiérrez, Belén.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LEON

Localidad: LEON

Correo electrónico del primer firmante: sagonla@yahoo.es

#### INTRODUCCIÓN:

El alargamiento del tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA) es un hallazgo frecuente en los laboratorios de hemostasia. Aunque de causa conocida en la mayoría de las ocasiones (controles de tratamientos con heparina, hemofilia, ...) es un hallazgo casual en otras, siendo necesario investigar su etiología por la posible trascendencia clínica.

#### OBJETIVOS:

Analizar los motivos del alargamiento del TTPA descubierto de forma casual en pacientes sin patología previa conocida o sin que exista constancia de un tratamiento que lo justifique.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se han analizado durante un periodo de un año todos los estudios con TTPA (SynthASil®, IL) alargado (ratio >1,40) en pacientes sin tratamiento anticoagulante conocido o proceso clínico potencialmente responsable de dicha alteración tras comparar el resultado con estudios previos del paciente. Se empleó el autoanalizador ACL TOP-700 (IZASA, S.A.), siendo correctas en todos los casos tanto las curvas de calibración del equipo como los controles de calidad de los reactivos.

Tras una nueva toma de muestra, en base al protocolo existente en nuestro laboratorio, en todos los casos se determinó inicialmente del T<sup>o</sup> Trombina (TT) (Thrombine Time®, HemosIL). En caso de ser normal, se realizó una prueba de mezclas, sospechándose un déficit factorial si el TTPA se normalizaba o bien la presencia de un inhibidor en caso contrario. En ambos casos las sospechas iniciales fueron confirmadas mediante la dosificación de factores de la vía intrínseca en el primer caso o mediante la detección de anticuerpos antifosfolípido (AAF) en el segundo. En caso de que el TT estuviese también alargado, se determinó de nuevo el TTPA tras tratamiento de la muestra con heparinasa (Hepzyme®, Dade Siemens); confirmándose la presencia de heparina en caso de que éste se normalizase, o sospechando que el paciente estaba siendo tratado con un inhibidor directo de la trombina (IDT) en caso de permanecer alargado en la nueva determinación.

## RESULTADOS:

De los 72.523 estudios de coagulación realizados en ese periodo, en 160 se objetivó un alargamiento del TTPA como hallazgo casual al cumplir los pacientes los requisitos previamente indicados. Los porcentajes de cada uno de los motivos de la alteración analítica se indican en la siguiente tabla.

CAUSAS	Nº MUESTRAS	%
A. Lúpico	68	42,5
IDT	42	26,2
Déficit Factorial	17	10,7
Mala extracción	15	9,4
M. Heparinizada	12	7,5
Otras causas	6	3,7
TOTAL	160	100

## DISCUSIÓN:

Aunque más del 42% de los casos fueron debidos a la presencia de un AAF, un porcentaje similar lo constituyeron el conjunto de aquellos en que existió una inadecuada información clínica en el volante de solicitud (presencia de heparina en la muestra o que estaban en tratamiento con un IDT) o que la muestra era defectuosa debido a una mala extracción. Situaciones las tres que en caso de realizarse un procedimiento de extracción adecuado o de aportarse información clínica al laboratorio evitarían la repetición de estudios y ahorro de costes.

## CONCLUSIONES:

1) La presencia de un inhibidor antifosfolípido es el motivo más frecuente de alargamiento casual del TTPA en nuestro entorno. 2) La insuficiente información clínica sobre tratamientos potencialmente influyentes o una inadecuada toma de muestras supone en conjunto más de otro 40%. 3) Una adecuada coordinación entre el médico peticionario, el personal que realiza las extracciones y el laboratorio evitaría muchos estudios innecesarios.

casos por cada 100.000 habitantes por año. Es el único trastorno hemolítico adquirido causado por una anomalía de la membrana eritrocitaria como resultado de una mutación somática clonal de un gen fosfatidil-inositol-glucano A (PIG-A) situado en el brazo corto del cromosoma X.

## OBJETIVO:

Dar a conocer las distintas pruebas que se pueden realizar en un laboratorio a través de un caso para llegar al diagnóstico y confirmación de la enfermedad HPN y la importancia de utilizar tanto test rutinarios y test específicos para el screening de la enfermedad dado que por su sintomatología puede confundirse o asociarse a otras enfermedades.

Entre los muchos métodos para confirmar la enfermedad (Test de Ham o el de la sacarosa) existe un Test de screening de gran interés que cuenta con una sensibilidad y fiabilidad es el Test de sephacryl gel en tarjeta (anticuerpos monoclonales de la serie roja) pero el que más datos nos proporciona. Es la Citometría de Flujo multiparamétrica, que aunque ya se utiliza desde hace algún tiempo, en estos momentos es cuando más se intenta explorar sus posibilidades.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Muestra de sangre de origen periférico y su preparación dependerá de las líneas a seguir, línea serie roja, línea serie blanca.

D PNH Test en gel en tarjeta CD55,CD59 ( Marcadores de anticuerpos monoclonales del aserie roja)

El Citometro Becton Dickinson facscan 500, el programa cpx Windows 2000.

Marcadores de anticuerpos monoclonales del aserie roja.CD55, CD59, CD235. Los de la serie blanca CD16, CD14, CD55, CD59, CD45 CD 64.

## RESULTADOS:

El Caso de nuestro estudio fue remitido del servicio de urgencias a la consulta de hematología (aplasia medular) .

Se le realizaron distintos estudios rutinarios ,un hemograma , una bioquímica y estudios específico , prueba rápida en tarjeta de gel para detectar la afectación de la serie roja, pero la confirmación de HPN sobre todo se realizó por un estudio de citometría de flujo , también se envió la muestra a un hospital de referencia para su confirmación.

Los resultados obtenidos fueron .

Se detectaron presencia de clon HPN afectado en la serie monocitoide (7% CD55+low//Flaer -y 7% CD59+low//Flaer) y a la población granulocítica (3%). No se detectan la serie linfocitoide.

## CONCLUSIONES:

De todas las pruebas realizadas la Citometría de flujo es la que constituye mayor sensibilidad y especificidad por lo que confiere este privilegio a la hora de elegir la técnica para el diagnóstico HPN. Aunque nuestro papel no es diagnosticar, si intervinimos en el complejo proceso de proporcionar datos que faciliten al facultativo información segura y precisa para diagnosticar. Debemos estar abiertas a todas las nuevas tecnologías y ser capaces de asimilar y adaptar esos conocimientos a nuestra labor diaria.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 184**

### ES UN ANTI-G VERDADERAMENTE?

*Autor/a/s: Rosa M<sup>a</sup> Fernández Gestoso , M<sup>a</sup> Jesús Martínez Noya, M<sup>a</sup> Dolores Vilariño López, Ángela Cortés Vidal-*

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

*Localidad: Santiago de Compostela*

*Correo electrónico del primer firmante: mdvl-cheis@hotmail.com*

## INTRODUCCIÓN:

El antígeno G, pertenece al sistema Rh y está presente casi en todas las hemátides D o C positivos, de modo que está sólo ausente en las células D-C-. A nivel del escrutinio de los anticuerpos irregulares (EAI) el anti-G se detecta igual que un anti-C + anti-D y se relaciona con enfermedad hemolítica del recién nacido. Un paciente puede desarrollar un anti-G después de una transfusión o tras un embarazo. Desde el punto de vista transfusional no cambiaría nuestra actitud puesto que el paciente recibiría sangre D-C-. Sin embargo, es importante diferenciarlo de

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 183**

### PRUEBAS DIAGNOSTICAS PARA LA HEMOGLOBINURIA PAROXISTICA NOCTURNA

*Autor/a/s: Carmen Guillen Esteban, Mercedes Paredes Recio, Estrella Rubio Mateo, Pilar Guillen Esteban*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario Mostoles*

*Localidad: Mostoles*

*Correo electrónico del primer firmante: brevas3@hotmail.com*

## INTRODUCCIÓN:

La Hemoglobinuria Paroxística Nocturna es una anemia hemolítica crónica adquirida causada por un trastorno clonal de la célula madre hematopoyética. Es una enfermedad rara y con gran variabilidad clínica, con una incidencia de 0,05-0,13

un anti-C+anti-D en los estudios gestacionales porque si la paciente presenta un anti-D no sería necesaria la profilaxis con gammaglobulina anti-D y el control del embarazo debería ser más exhaustivo.

De modo que cuando nos encontramos ante un panel de anticuerpos irregulares de una gestante compatible con anti-C +anti-D puede tratarse: 1) anti-G; 2) anti-G+anti-D; 3) anti-G+anti-C; 4) anti-G+ anti-D+anti-C; 5) anti-D+anti-C.

#### OBJETIVOS:

Descripción de un estudio inmunohematológico gestacional con escrutinio de anticuerpos irregulares compatible con anti-D+anti-C.

Se trata de una mujer de 32 años, O negativa (C-, E-, c+, e+, kell-) actualmente en 10 semanas de 2ª gestación y con escrutinio de anticuerpos irregulares compatible con anti-D+anti-C,

En 1ª gestación la paciente había recibido profilaxis con gammaglobulina anti-D (última dosis el 06/07/12, a las 24 horas tras el parto) con grupo del RN desconocido por ser en otra área sanitaria.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Para detectar los anticuerpos de un estudio con panel compatible con anti-D+anti-C y ante la sospecha de un anti-G, hemos realizado una doble aloadsorción.

En la 1ª aloadsorción enfrentamos el suero problema con hematies Ro (D+, C-, G+) detectándose en este 1º suero adsorbido anti-C y la elución sigue siendo compatible con anti-D+anti-C.

Después en la 2ª aloadsorción enfrentamos el eluido de la 1ª aloadsorción a hematies r' (D-, C+, G+) siendo este 2º suero adsorbido negativo. Sin embargo, al hacer la elución de estos 2º hematies el panel es compatible con anti-D+anti-C por lo que se trata de un anti-G real.

#### RESULTADOS:

La paciente presenta anti-C +anti-G, de modo que, la gestante es candidata a recibir profilaxis con gammaglobulina anti-D.

También se realiza el título del anti-C r siendo < 2 y el título de anti-G siendo de 8.

#### CONCLUSIONES:

Ante un estudio gestacional con panel de anticuerpos irregulares compatible con anti-C+anti-D debemos: 1. Revisar la historia obstétrica y transfusional de la paciente. 2. Descartar anti-G con una doble aloadsorción 3. Si realmente se detecta un anti-D la gestante no tendría porque recibir profilaxis con gammaglobulina anti-D y requeriría un seguimiento más estrecho durante la gestación. 4. Se deberá repetir estudio a partir de las 28 semanas de gestación para nueva titulación de anticuerpos.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 185**

#### TRANSFUSION DE COMPONENTES SANGUINEOS EN EL SERVICIO DE URGENCIAS DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO SAN AGUSTIN DE LINARES

*Autor/a/s: FRANCISCA GARCIA GUZMAN, FRANCISCO LOPEZ RUIZ, ENCARNACION PUENTES DIAZ, JOSEFA MARTINEZ NAJERA*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario San Agustín de Linares*

*Localidad: LINARES*

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

#### INTRODUCCIÓN:

Las indicaciones de la transfusión de los distintos componentes sanguíneos se basan en la recuperación de la normalidad funcional del organismo cuando se ha visto alterada por situaciones de déficit de estos elementos.

#### OBJETIVO:

Estimar el número de los distintos hemoderivados transfundidos durante el periodo de Enero a Diciembre del 2013 en el servicio de Urgencias de Hematología-Hemoterapia de un hospital comarcal.

#### MATERIALES Y MÉTODOS:

- Determinación del grupo hemático-sérico y sistema Rh del paciente. Tarjetas de gel Diamed DiaClon ABBO+ Reverse Grouping. Se utiliza hematies comerciales ID-Diacel ABO A1 al 0,8% y hematies comerciales ID-Diacel ABOB al 0,8%.

- Escrutinio de anticuerpos irregulares y auto-anticuerpos. Tarjeta Diamed Liss-Coombs, con células comerciales ID-Diacell I,II,III human suspensión al 0,8%.

- Identificación de anticuerpos irregulares. Id-Panel con 11 tipos de hematies de composición antigénica conocida y fenotipado de la sangre problema utilizando tarjeta en gel DiaClon Rh-Subgroups +K.

- Centrifuga Diamed modelo ID-Centrifuge 24s e Incubador modelo Dima.

#### RESULTADOS:

Durante el año 2013, la Unidad de Gestión Clínica de Hematología- Hemoterapia del Hospital San Agustín de Linares, transfundió un total de 2379 componentes sanguíneos, lo que equivale a un total de 706.512 mililitros transfundidos.

Concretamente en el servicio de urgencias del Hospital Universitario San Agustín de Linares, se transfundió un total de 777 concentrados de hematies ( 226.377 ml) un 32,1% del total de los transfundidos en todo el hospital; 3 concentrados de hematies irradiados ( 900 ml ) un 0,1% del total; 9 unidades de plasma fresco congelado ( 2434 ml ) un 0,3% y 2 unidades de plaquetas ( 700 ml ) un 0,1% del total de los transfundidos en el conjunto de los servicios.

#### CONCLUSIONES:

La estadística refleja que es el servicio de Urgencias el que transfunde un mayor número de componentes. El hemoderivado que más se transfunde en este servicio es el concentrado de hematies, con un total de 764 unidades, lo que supone un 32,1% de todos los concentrados de hematies que se transfundieron en nuestro hospital durante el año 2013.

La indicación de los diferentes hemoderivados, dependerá de la decisión del facultativo clínico en dependencia de parámetros clínicos- biológicos. La separación de la sangre en sus distintos componentes sanguíneos (concentrados de hematies, concentrados de hematies irradiados, plasma fresco congelado y plaquetas) ,permite garantizar la utilización óptima de la sangre y satisfacer las necesidades de cada paciente mediante la aplicación de una terapia substitutiva segura que contribuirá a una rápida recuperación funcional de cada paciente.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 188**

#### SEGUIMIENTO Y PROCESO DE LA EHRN HASTA LLEGAR A UNA TRANSFUSION INTRAUTERO O UNA EXANGUINOTRANFUSION.

*Autor/a/s: Mª ROSARIO MEJIAS GARCIA, CARLOTA Mª GOMEZ ROMAN, SOLEDAD TORRES ULINES, ISABEL Mª FERNANDEZ ROMAN.*

*Centro de trabajo: HEMATOLOGIA , HOSPITAL VIRGEN MACARENA*

*Localidad: SEVILLA*

*Correo electrónico del primer firmante: mrm.8884gmail.com*

#### INTRODUCCIÓN:

La mayoría de los recién nacidos es normal que los niveles de bilirrubina sean un poco más altos, porque en el vientre de la madre la placenta elimina la bilirrubina del cuerpo del feto, y al nacer el hígado del recién nacido es el que comienza hacer este trabajo, pero para que esto ocurra puede pasar un tiempo de dos a tres semanas.

La hemólisis de los hematies tiene como resultado una elevación de la bilirrubina, producto de degradación del hem. Las elevadas cantidades de bilirrubina pueden depositarse en el SNC. causando un trastorno neurológico denominado Kernicterus.

Debe sospecharse la enfermedad hemolítica del recién nacido en mujeres gestantes Rh negativas que han formado Aloanticuerpos Anti-D.

La Enfermedad Hemolítica Rh del recién nacido (EHRN Rh) puede desarrollarse cuando una mujer Rh negativa tiene un feto Rh positivo. El feto hereda de su padre Antígenos que son distintos a los de su madre, pero normalmente no se produce rechazo inmune, a pesar de que durante el embarazo están pasando IgG maternas a la circulación fetal, ahora bien cuando estos Anticuerpos reaccionan con antígenos de los hematies fetales puede tener lugar la destrucción de estos últimos , produciéndose la EHRN.

Los Antígenos del sistema Resus (especialmente D) y del sistema ABO, son los que están implicados en casos de EHRN debido a que dichos Antígenos tienen un elevado poder inmunogenico e inducen la formación de Aloanticuerpos IgG.

## OBJETIVOS:

- Detectar a mujeres gestantes Rh negativas con Aloanticuerpos Anti-D, con fetos Rh positivos. Verificar embarazos anteriores con fetos Rh incompatibles, y si han tenido abortos, o maniobras obstétricas previas (ejemplo amniocentesis).

Estudiar la causa de la enfermedad Hemolítica del recién nacido que ha precisado exanguinotransfusión.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

- Se utilizan tarjetas de grupos ABO, Rh, CD, CI, en Gel-Test, se hace escrutinio de Anticuerpos Irregulares. Para la exanguino transfusión se utiliza siempre concentrado de hemáties de menos de cinco días con un Hcto adecuado para que al unir los dos volúmenes de concentrados el resultado final después de hacer los cálculos (aceptados por la OMS), sea de un Hcto de 50%.

Se utilizan CH del grupo O, salvo que madre y niño sean isogrupo, seleccionando sangre Rh negativa si la incompatibilidad es del Rh para el Antígeno-D. En la incompatibilidad por anticuerpos eritrocitarios diferentes al ABO y Rh, se usan CH carentes del Antígeno correspondiente.

Se utiliza PFC del grupo AB ó isogrupo con CH. Las pruebas cruzadas se realizan con suero materno y en su defecto con eluido del RN. Se cruza sangre de la madre con la del niño, ya que el niño tiene los Anticuerpos de la Madre.

## RESULTADOS:

Según búsqueda en base de datos del Hospital Virgen Macarena, entre los años 2010 al 2013, se han encontrado dos exanguinotransfusiones, una en el 2010 y otra en el 2012, las dos por incompatibilidad de grupo del sistema ABO, con CD. Positivo. Y que llegaron a buen termino.

## CONCLUSIONES:

Es fundamental detectar a las madres Rh- para meterlas en el programa de profilaxis, estudiando el RHD fetal en sangre materna.

Para los recién nacidos con Rh+ de madres Rh- que no están controladas ó con incompatibilidad de grupo ABO, la exanguino transfusión juega un papel muy importante para reducir y normalizar la hiperbilirrubinemia, como un intento para evitar el efecto nocivo de la bilirrubina elevada en la sangre (neurotoxicidad). Afortunadamente cada vez son menos las Exanguinotransfusiones.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 190**

### ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE HEMOGRAMA EN TUBO CON EDTA Y EN TUBO CON HEPARINA DE LITIO

*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 90% de las peticiones solicitan hemograma (hematocrito, hemoglobina, hemáties, leucocitos y plaquetas).

Habitualmente nos mandan sangre en tubo con EDTA pero en ocasiones nos encontramos solo con sangre en tubo con heparina de litio para bioquímica, que justifica este estudio.

## OBJETIVOS:

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 sí.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Analizamos 37 muestras de sangre en tubo con heparina de litio y 37 en tubo con EDTA 3 K, obtenidas de 37 pacientes del Servicio de Urgencias, Consultas externas y hospitalizados. La elección de las mismas ha sido arbitraria y en días diferentes.

Usamos el analizador de hematología ADVIA 2120 (Siemens).

## RESULTADOS:

Comprobación de equivalencia de resultados entre los dos tubos utilizados a través de la Regresión de Passing-Bablok, 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 leucocitos y plaquetas. Principalmente en plaquetas.

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

		Estadísticos descriptivos							
		N	Media	Mediana	Varianza	Desv típica	Mínimo	Máximo	Amplitud Inter-cuartil
EDTA	HEMATOCRITO	37	41,557	43,500	46,745	6,8370	25,1	53,4	10,1
	HEMOGLOBINA	37	13,414	14,000	5,915	2,4320	8,0	17,6	3,9
	HEMATÍES	37	4,6057	4,7700	0,599	0,77420	2,57	6,14	0,99
	LEUCOCITOS	37	10,2130	9,2300	13,560	3,68239	4,97	19,97	4,94
	PLAQUETAS	37	244,08	237,00	4423,465	66,509	95	385	114
HEPARINA DE LITIO	HEMATOCRITO	37	41,578	43,500	48,093	6,9349	24,8	53,8	9,8
	HEMOGLOBINA	37	13,476	14,100	6,178	2,4856	8,0	17,6	3,8
	HEMATÍES	37	4,621	4,800	0,629	0,7931	2,6	6,3	1,0
	LEUCOCITOS	37	9,5605	8,7200	13,094	3,61852	4,15	18,56	5,32
	PLAQUETAS	37	150,38	138,00	9206,964	95,953	33	455	156

## CONCLUSIONES:

Existen diferencias significativas en leucocitos y plaquetas, pero principalmente en plaquetas.

Ambos anticoagulantes no son intercambiables para el hemograma.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 195**

### SÍNDROMES LINFOPROLIFERATIVOS DIAGNOSTICADOS A PARTIR DE LA REVISIÓN DE FROTIS DE SANGRE PERIFÉRICA EN UN LABORATORIO DE RUTINA

*Autor/a/s: Padrós Ribas Núria, Lao Bretones Rosa, Puig Fontanellas Rosa, González Lerida Mireia, Luque Josefina, Vidal Judith, Medina Ugarelli Jorge, Vilalba Hernandez Teresa.*

*Centro de trabajo: CATLAB*

*Localidad: Viladecavalls*

*Correo electrónico del primer firmante: nuria.padros@hotmail.com*

## INTRODUCCIÓN:

Los linfocitos B y T circulantes derivan, al igual que todas las células sanguíneas, de las células madre hematopoyéticas situadas en la médula ósea. La célula madre da lugar, entre otras, a los linfoblastos (células linfóide más inmaduras) y de ellos, tras sucesivas etapas madurativas, se llega a los linfocitos. La transformación neoplásica de estas células puede producirse en cualquiera de estas etapas madurativas del linfocito y ello origina los distintos tipos de síndromes linfoproliferativos (SLP). Ello explica la gran variedad y heterogeneidad biológica y clínica de estos tumores.

En nuestro laboratorio (Catlab) se procesan diariamente en la sección de rutina una media de 1830 hemogramas procedentes de tres hospitales y de varias áreas de atención primaria que abarcan una población en torno a los 800000 habitantes. Entre los motivos que determinan la revisión del frotis de sangre periférica consta

la linfocitosis, y los criterios adoptados en el laboratorio para dicha revisión son una cifra de linfocitos superior a  $5.5 \times 10^9/L$  y cifras inferiores si aparecen alarmas en el autoanalizador.

### OBJETIVOS:

Valorar el número y las características de los Síndrome Linfoproliferativo (SLP) de novo diagnosticados en nuestro laboratorio a partir de la revisión del frotis de sangre periférica.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Para el análisis de los hemogramas utilizamos una cadena con 4 analizadores Sysmex XE 2100 (Roche) y para la revisión del frotis empleamos el Extensor-Teñidor SP1000 Roche, un dispositivo Cellavision DM96 y si persisten dudas una segunda revisión en el microscopio óptico por el facultativo. Algunas de estas revisiones sugieren la presencia de un SLP, por lo que ampliamos el estudio realizando el análisis de poblaciones linfocitarias mediante citometría de flujo.

En citometría el laboratorio cuenta con el Preparador de muestras SP-3 (vacutainer) BD y un citómetro de flujo FacsCalibur BD (2 lasers/4colores)

### RESULTADOS:

De todos los frotis revisados en el 2013, se amplió estudio con Inmunofenotipo (IF) en un total de 97 casos tanto por sospecha de un SLP por morfología como en aquellos casos con un número elevado de linfocitos absolutos. Fueron diagnosticados de SLP de novo 56 casos (49 SLP-B y 7 SLP-T). Dentro de los SLP-B, los diagnósticos más frecuentes fueron: Leucemia Linfática Crónica (LLC) 28 casos, Linfoma de Zona Marginal (LZM) 7 casos, Tricoleucemia 4 casos y Linfoma del Manto 3 casos. De las LLC, 75% presentó morfología típica (sombas de Gumprecht y linfocitos pequeños con cromatina cuarteada y escaso citoplasma). En 43% de los casos de LZM se describieron linfocitos con prolongaciones citoplasmáticas y en el 100% de las Tricoleucemias se describieron tricoleucocitos.

Se describió morfología típica de LLC en 23 muestras de las cuales 91% se confirmó con el IF y 9% fueron SLP-B no determinados.

En 24 frotis se describieron linfocitos de morfología heterogénea, de estos el 62,5% no presentaron alteraciones en el IF, 17% fueron LLC y 8% LZM.

### CONCLUSIONES:

- La revisión del frotis por los criterios establecidos pueden derivar en el diagnóstico de patologías oncohematológicas.

- Las morfologías que presentaron mejor correlación con el IF fueron la LLC y la presencia de tricoleucocitos.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 205**

### RELACION ENTRE EL TIEMPO DE OBTURACION Y EL FACTOR VON WILLEBRAND

*Autor/a/s: M Angeles Torres, Teresa Delgado, Carmen Rodriguez, Teresa Rubín, Dr Ramón Rodríguez*

*Centro de trabajo: HOSPITAL SEVERO OCHOA*

*Localidad: Leganés, (MADRID)*

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

### INTRODUCCIÓN:

El Hospital Severo Ochoa se encuentra en el área sanitaria IX de Madrid. Atiende a una población de 400.000 habitantes aproximadamente. En la Consulta de Diátesis Hemorrágica de nuestro hospital, se han estudiado durante los años 2011, 2012 y 2013 un total de 35 pacientes que acudían con un diagnóstico de sospecha de Enfermedad de VON WILLEBRAND, ya sea por su historial clínico o por presentar antecedentes familiares de dicha enfermedad.

A estos pacientes se les realizaron las siguientes pruebas:

Tiempo de Obturación(TO) con Epinefrina (EPI), si estaba alargado, se realizaba el Tiempo de Obturación con Adenosín fosfato (ADP) y si éste también estaba alargado, se realiza el FACTOR VON WILLEBRAND, COFACTOR RISTOCETINA y FACTOR VIII. En algunos casos, donde el Tiempo de Obturación era normal, se continua con el estudio por criterio facultativo,

### OBJETIVO:

El objetivo de nuestro estudio es demostrar la relación existente entre un Tiempo de Obturación patológico, (EPI / ADP) y la presencia de la E. de Von Willebrand

### MATERIAL Y MÉTODOS:

. Muestra de sangre total anticoagulada con citrato sódico (1:9)

. Centrífuga de frío

. Aparato PFA-100 (SIEMENS®)

. Aparato STA RACK (ROCHE®)

. Cartucho de EPI y ADP (SIEMENS®)

. STA Liatest VWF (ROCHE®)

. BC Von Willebrand Reagent (SIEMENS®)

. Factor VIII (ROCHE®)

. Controles: STA Liatest Normal y Patológico. Standard Human Plasma. Preciclot I y II

Se determina el Tiempo de Obturación de la muestra de sangre total anticoagulada con citrato sódico, en el aparato PFA-100 (SIEMENS®), según método automatizado

La determinación del FACTOR VON WILLEBRAND y del COFACTOR RISTOCETINA, se hace en plasma obtenido después de centrifugar la muestra en frío a 3000 rpm durante 10 minutos, (antes de transcurrida una hora desde su extracción), por método turbidimétrico en el aparato STA RACK (ROCHE®). La determinación del FACTOR VIII se realiza en plasma por método coagulativo, en el aparato STA RACK (ROCHE®).

### RESULTADOS:

Se realiza el recuento de los pacientes con TO normal, TO patológico y Enfermedad Von Willebrand, entendiéndose como ésta cuando alguno de los parámetros del estudio ( VWAg, CoR, FVIII) son patológicos (<30% ).

EPI(TOTB1) [84-160]		ADP(TOTB2) [68-121]		FVIII [50-150]		FVW(Ag) [50-150]		VW:CoR [50-150]	
N	P	N	P	N	P	N	P	N	P
16	19	4	15	24	5	26	3	22	7

	ENFERMEDAD VON PATOLÓGICO	WILEBRAND NORMALES
EPI Y ADP PATOLÓGICOS	9 Pacientes (verdaderos positivos)(VP)	8 Pacientes(Falsos positivos)(FP)
EPI Y ADP NORMALES	1 Pacientes(falsos negativos)(FN)	15 Pacientes(Verdaderos negativos)(VN)

SENSIBILIDAD=  $\frac{VP}{VP+FN} = \frac{9}{9+1} = 0.9$

(VP+FN) 10

### CONCLUSIÓN:

Se realiza el ratio entre pacientes verdaderos positivos para la Enfermedad Von Willebrand y los falsos negativos (aquellos que si la padecen aunque el TO sea normal) dando un resultado de 0.9, que nos permite concluir que en nuestro centro el Tiempo de Obturación, resulta un parámetro con sensibilidad acorde con lo publicado( o lo demostrado en otros centros) para el diagnóstico de Enfermedad de Von Willebrand.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 228**

### ANÁLISIS DE ANTICOAGULANTE TIPO LUPUS (DVRT) Y ANTICUERPOS ANTIFOSFOLÍPIDOS EN UN LABORATORIO DE RUTINA EN 2013

*Autor/a/s: Mercedes Senar Ponte, María Carme Puntí Fiestas, Teresa Villalba Hernández*

*Centro de trabajo: CatLab*

*Localidad: Terrassa (Barcelona)*

*Correo electrónico del primer firmante: merche.senar@gmail.com*

### INTRODUCCIÓN:

El anticoagulante lúpico es un autoanticuerpo adquirido presente en varias alteraciones autoinmunitarias y a veces también en individuos sanos. Los anticoa-

gulantés lúpicos son inmunoglobulinas que se unen a los complejos de varias proteínas con fosfolípidos activos en la coagulación y, por tanto, prolongan el tiempo de coagulación de las pruebas que dependen del fosfolípido, como el tiempo de protrombina (TP) o el tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPa). El nombre "anticoagulante" es confuso, porque los pacientes no tienen tendencia al sangrado, sino que hay una clara asociación con tromboembolismos venosos recurrentes, accidentes cerebrovasculares y otros eventos arteriales y, en mujeres, en abortos recurrentes, pérdidas fetales y otras complicaciones del embarazo. En nuestro laboratorio el estudio del Anticoagulante Lúpico se realiza para valorar riesgo trombotico (trombofilia), en enfermedades autoinmunes y también cuando se solicita perfil de coagulopatía, para descartar relación con tiempos de coagulación (TP, TTPa) alargados.

Existen distintas técnicas de análisis de anticoagulante tipo lupus y las guías de la CLSI recomiendan la práctica de dos técnicas, una de las cuales debe ser el dVVRT.

#### OBJETIVO:

- Conocer el número, procedencia y diagnóstico de los Anticoagulantes Lúpicos solicitados.

- Valorar los resultados de la técnica dVVRT/dVVRTc y su correlación con los resultados de Ac antifosfolípido.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Autoanizador: Sta Rack Evolution de Stago/Roche Diagnostic.

Reactivos: DRVV SCREEN y DRVV CONFIRM de Stago. Control comercial: Control LA1+2 de Stago.

Se utilizan también como control interno normal el resultado de un pool utilizado para los test de mezclas. y como control patológico muestras de resultados positivos para DRVV screen y confirm.

El tiempo de referencia para ambas técnicas se obtuvo del análisis de 40 plasmas normales con ambos reactivos.

Las muestras llegan al laboratorio y se derivan al área de Hemostasia. Después de su centrifugación se procesan en el analizador STA-Rack evolution y se realizan los test de rutina (TP/TTPa) y el test dVVRT Screen. Se ha confirmado que con la centrifugación de rutina la cifra de plaquetas en plasma es inferior a  $10^9/L$

El resultado del screening se obtiene dividiendo los segundos de la muestra por el tiempo de referencia. El resultado se considera positivo si este ratio es superior a 1.2

A las muestras con resultado positivo se las vuelve a centrifugar, se separa el plasma en alícuotas y se congela a  $-20^{\circ}$ . Para la realización del test confirmatorio se descongelan las muestras a  $37^{\circ}$  y se procesan con el dVVRT confirm. Se obtiene un tiempo en segundos que se divide por su tiempo de referencia y de esta manera tenemos el ratio confirmatorio. Dividimos el ratio del screening por el ratio del confirmatorio para obtener el Ratio Normalizado, que si es superior a 1.2 se considera positivo.

RS= tiempo dVVRTs muestra/TR dVVRTs; RC= tiempo dVVRTc muestra/TR dVVRTc. Ratio Normalizado: RS/RC

Para el estudio de los anticuerpos antifosfolípidos se analizan los anticuerpos anticardiolipina tipos IgG e IgM y los anticuerpos antib2GPI tipos IgG e IgM por la técnica de Fluoroinmunoanálisis (ImmunoCAP 250, Thermo scientific). Resultados positivos  $>40$  para Ac anticardiolipina y  $>10$  para antib2GPI.

#### RESULTADOS:

En 2013 se analizaron 1266 muestras para anticoagulante tipo lupus. Predominio de solicitudes de medicina interna (651) seguido de Hematología (168) y obstetricia (86).68% de pacientes de sexo masculino.

Resultados screening: negativo 72%, positivo 28%. Test confirmatorio: positivo en 132 estudios (37%)

Anticuerpos antifosfolípidos solicitados en 925 pacientes con resultados positivos en al menos uno de los anticuerpos en 135 de ellos (14.59%). El porcentaje de positividad en muestras con dVVRT screen positivo fue del 19.8%, y negativo del 7.12%. En los pacientes con test confirmatorio positivo los anticuerpos antifosfolípido fueron positivos en un 36.5%. La frecuencia de los diferentes subtipos (anticardiolipina IgG e IgM, antib2GPI IgG e IgM) fue similar en todos ellos.

#### CONCLUSIONES:

El estudio de anticoagulante tipo lupus y de anticuerpos antifosfolípidos son técnicas complementarias que se deberían solicitar conjuntamente

Es importante analizar los resultados de nuestros estudios para estandarizar técnicas diagnósticas.

#### ISOINMUNIZACION EN EL EMBARAZO. A PROPOSITO DE DOS CASOS.

Autor/a/s: Aras Ibarzabal, Monika; Tirado Garrido, Lia; Perez de la Puente, Maite; Gomez Alcibar, Yolanda; Bedia del Rio, Ana ; Zurbano Diaz de Mendivil, Maite ; Arberas Ibarrola, Olga , Dra. Pujana Zaldegi, Itziar y Dr. Marco de Lucas, Fernando.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO BASURTO

Localidad: BILBAO

Correo electrónico del primer firmante: monika@irakari.jazztel.es)

#### INTRODUCCIÓN:

En la EHRN los eritrocitos fetales se recubren con aloanticuerpos IgG maternos dirigidos contra antígenos de origen paterno presentes en las células fetales.

Los anticuerpos capaces de provocar EHRN pueden detectarse en el embarazo y con el objeto de disminuir la incidencia de EHRN, existen protocolos que incluyen la determinación del grupo/Rh y escrutinio de anticuerpos irregulares en la semana 12.

Todos los estudios positivos requieren la identificación de los anticuerpos responsables y además, en los casos de embarazadas D negativo con estudio inicial negativo, habrá que repetir los estudios antes de la administración de la gammaglobulina inmune ( S 28-30)

#### OBJETIVO:

El objetivo de este trabajo es la descripción de dos casos de aloinmunización detectados en nuestro laboratorio dentro de los protocolos de prevención de EHRN en el embarazo.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Partimos de muestras de sangre periférica con EDTA y suero.

Realizamos grupo sanguíneo ABO, fenotipo Rh y anticuerpos irregulares (Coombs indirecto).

La determinación del grupo y Rh se realiza en tarjetas DG Gel ABO/Rh (2D) de Diagnostics Grifols que contienen microesferas de dextranos polimerizados en medio tamponado que actúa como filtro. Es un proceso automático en el que se diluye la muestra al 5% , dispensa 10µl. Centrifuga 9 min. y realiza la lectura

Los anticuerpos irregulares se realizan en tarjeta en gel ID-LissCoombs que contiene AGH poliespecífica. Se dispensa 50 µl. de células de fenotipo conocido ID-Cell y 25 µl de suero o plasma muestra. Se incuba 15 min a  $37^{\circ}C$ . Centrifuga 10 min. y se lee.

En el caso de que el escrutinio de positivo utilizamos 2 tarjetas ID-LissCoombs por muestra y un panel de identificación con 11 células y realizamos los mismos pasos que en el caso anterior.

#### RESULTADOS:

En nuestro laboratorio realizamos al mes alrededor de 300 escrutinios de anticuerpos irregulares en pacientes ambulatorios , de los cuales un 80% son escrutinios en embarazadas.

Desde Enero de 2010 hasta Diciembre de 2013 hemos investigado un total de 374 escrutinios positivos de los cuales 343 se corresponden con aloanticuerpos anti-D postvacunación y el resto se corresponden con aloinmunización por anti-E( 18), Anti D+E(1),Anti D+C(1),Anti-K(4),otros (7)

Caso1

Mujer 24 a.

Escrutinio en la semana 12 : grupo A(+), escrutinio de AAll positivo.

Identificación de Ac en panel Liss-Coombs : aloanticuerpo anti-K. Título 1/4

La revisión de los antecedentes clínicos nos permite ver que se trata de una mujer politransfundida en su país de origen por esferocitosis hereditaria .En 2006 ingreso en nuestro centro por cuadro de hemólisis .El estudio pretransfusional de aquella época ya mostraba la presencia de Anti-K.

Control mensual de titulación durante todo el embarazo. ( título max: 1/4 en el primer trimestre )

Rn sano a término sin EHRN.

Caso 2

Mujer 32 a. secundípara ( 1er embarazo ,control en otro centro ;parto : hija sana RH negativa)

En la semana 12 :grupo A/Rh(-) ( cde/cde), escrutinio de anticuerpos irregulares positivo .

Identificación de Anticuerpos en Liss-Coombs y enzimático : compatible con antiD+antiC . y con una titulación 1/8. En embarazadas es importante distinguir entre la presencia de Ac anti D+C o antiG ( se trata de un antígeno común al polipéptido D y CcEe que contiene el antígeno C), que se expresan serológicamente igual.

Si se tratara de anti-G deberíamos suministrar la vacuna.

Se estudia al padre :A/ Rh (-) (cde/cde) lo que nos refuerza la hipótesis de que lo que presenta la paciente es un anti-G. Además no hay que administrar gammaglobulina.

Se solicita al centro de referencia estudio para discriminar entre Anti-D+Anti-C y Anti-G pero no existe ningún laboratorio que lo realice.

Tres semanas después sufre un aborto.

Actualmente embarazada. Se controla la inmunización mediante estudios de titulación mensuales ( de momento < título que en el embarazo previo)

### CONCLUSIONES:

Desde la introducción de profilaxis anti-D para embarazadas, así como la introducción de técnicas más sensibles han hecho que otros anticuerpos hayan cobrado importancia.

A pesar del escrutinio en embarazadas, aparecen casos de isoinmunización; en los que es importante seguirlos.

Es muy importante la determinación fenotípica de mujeres menores de 45 años para transfundir unidades compatibles y evitar aloinmunizaciones que provoquen EHRN .

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 250**

### DETERMINACIÓN DE PLAQUETAS RETICULADAS (RPF) CON EL ANALIZADOR CELL DYN SAPPHERE EN EL ESTUDIO DE CASOS DE TROMBOPENIA DE DIFÍCIL CLASIFICACIÓN

*Autor/a/s: Martín Vega, José Valerio. Bolaños del Rosario, M<sup>a</sup> Carmen. Quintana Paris, Laura. García Rodríguez, Minerva del Pino.*

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

*Localidad: Las Palmas*

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

### RESUMEN:

Las Plaquetas reticuladas (PR) son las formas más jóvenes de las plaquetas circulantes y tienen como características más destacables la presencia de ARN mensajero (ARNm), residual y de retículo endoplásmico rugoso (RER). Son funcionalmente más activas, recién liberadas a sangre periférica tras su génesis en el citoplasma de los megacariocitos. Siendo un buen marcador de la trombocitopenia e índice de la actividad megacariocítica medular. Las plaquetas reticuladas son relevantes a la hora de valorar una trombopenia. Las trombopenias de origen central (por insuficiencia medular) tienen un bajo porcentaje de plaquetas reticuladas. Las trombopenias periféricas (por aumento de la destrucción o por anormal distribución) suelen presentar un elevado porcentaje de plaquetas reticuladas, siendo mayor este porcentaje en el caso de trombopenia por consumo de origen inmune, como por ejemplo el la Purpura Trombocitopénica Inmunológica (PTI) o Trombopenia Inducida por Heparina (TIH). En ocasiones, por la complejidad y comorbilidades de algunos pacientes, es difícil clasificar una trombopenia, siendo las plaquetas reticuladas de gran ayuda para ello.

La determinación de las plaquetas reticuladas se realiza mediante citometría de flujo, pero la limitación de esta técnica es la falta de estandarización de la metodología.

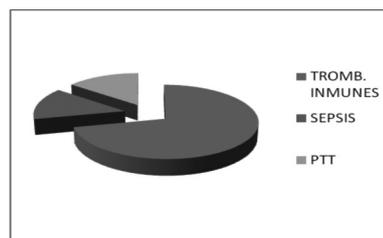
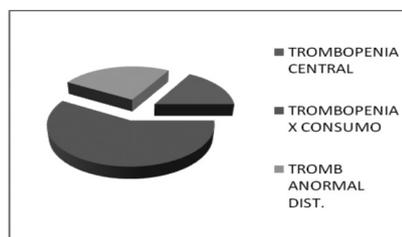
Los analizadores automatizados actuales han incorporado la determinación de plaquetas inmaduras mediante el IPF ("Immature Platelet Fraction") en el caso de Sysmex, y el rPF ("reticulated Platelet Fraction") en el Cell-Dyn Sapphire. Esta determinación se realiza de forma simple, automatizada y reproducible entre laboratorios, si bien aún no están completamente definidos los valores normales o patológicos para cada analizador.

### OBJETIVOS:

1. Determinar la fracción de plaquetas reticuladas (rPF en Cell-Dyn Sapphire) en pacientes con trombopenia de origen no filiado.
2. Correlacionar el porcentaje de rPF con el origen de la trombopenia (central, periférica, por anormal distribución).
3. Valorar la respuesta de la trombopenia al tratamiento instaurado.

### RESULTADOS:

De los 12 pacientes analizados 5 eran mujeres y 7 hombres. La media de edad de los pacientes fue de 68 años. La media de la cifra de plaquetas en el momento de la determinación de rPF fue de  $25,81 \times 10^9/\mu\text{L}$  (rango: 2,45 – 80,5). La media de rPF del total de los pacientes fue de 11,6 % (rango: 4,4 – 19,1). De los 12 casos de trombopenia analizados, 2 fueron clasificados como trombopenia central, 7 como trombopenia por consumo (5 trombopenias inmunes, 1 sepsis, 1 PTT) y 3 como trombopenia por anormal distribución (2 cirrosis hepática, 1 enfermedad renal crónica). La media de rPF de los casos con trombopenia por consumo de 13.71% y en los casos de anormal distribución de 6.77%. En cuanto a la respuesta al tratamiento instaurado, uno de los dos casos de trombopenia de origen central se resolvió tras el tratamiento etiológico. 5 de 7 casos con trombopenia por consumo mejoraron o se resolvieron tras el tratamiento instaurado (corticoides, antibioterapia, estimulador de megacariopoyesis, rituximab, plasmáferesis) y en los casos de trombopenia por anormal distribución sólo se observó mejoría de las plaquetas en el caso de enfermedad renal crónica.



### CONCLUSIÓN:

En los casos de trombopenia de difícil clasificación que se analizaron, cifras elevadas de rPF sugieren un origen periférico de la trombopenia, especialmente en pacientes con trombopenia por consumo de origen inmune. En estos casos se observa cómo mejora la trombopenia con el tratamiento instaurado.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 253**

### ANÁLISIS DE LAS DETERMINACIONES DE REACTANTES DE FASE AGUDA (VSG Y PCR)

*Autor/a/s: Eva María Fernández García. Francisca García Silva. Bernardo Cabeza Barrios. Sebastián Garzón López*

*Centro de trabajo: Hospital de Jerez. Área de Gestión Sanitaria Norte de Cádiz*

*Localidad: Jerez de la Frontera*

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

### INTRODUCCIÓN:

Las proteínas de fase aguda constituyen un grupo heterogéneo de proteínas sintetizadas a nivel hepático y cuyos niveles plasmáticos se modifican en los procesos de inflamación y/o necrosis tisular. Aunque son muchas, las más utilizadas en la práctica clínica habitual son la velocidad de sedimentación globular (VSG) y la proteína C reactiva (PCR). Aunque ambas son inespecíficas y tienen funciones similares, presentan algunas diferencias no siempre conocidas. Así, los niveles de PCR reflejan los cambios en la actividad inflamatoria de manera más rápida que la VSG y esta última puede resultar elevada aun en ausencia de patología, dado que puede aumentar con la edad, en el género femenino y presencia de anemia.

## OBJETIVO:

analizar el uso de ambas determinaciones en nuestro hospital y estudiar si existen posibles bolsas de ineficiencia.

Diseño: estudio observacional, retrospectivo, en el que analizamos la totalidad de las solicitudes recibidas en nuestro laboratorio durante el año 2013, que incluían VSG y/o PCR.

## RESULTADOS:

durante el año 2013 se recibieron un total de 98.351 solicitudes con alguna de ambas pruebas. El 75,4% de las solicitudes procedió de AP y el 18,7% de AE. En 55.825 (56,8%) se solicitó únicamente la VSG, en 17.072 (17,4%) sólo la PCR y en 25.427 (25,8%) ambas. De tal forma que la VSG fue solicitada 81.279 ocasiones y la PCR en 42.279. Los facultativos de AP solicitaron predominantemente la VSG (VSG 89,1% vs PCR 33,1%) mientras que los de AE prefirieron la PCR (VSG 59% vs PCR 76%).

Ambas pruebas se encontraron elevadas en porcentajes similares: VSG en 19.028 casos (23,4%) y PCR en 11.290 casos (26,6%). De los 25.427 casos en los que se solicitaron ambas pruebas, hubo concordancia en los resultados (ambas elevadas o ambas normales) en 75,3%, mientras que la VSG estuvo elevada con PCR normal en 3.222 casos (12,7%) y PCR alta con VSG normal en 3.061 casos (12,0%).

En los pacientes con anemia, definida como Hb menor a 13 gr/dl en hombres y menor a 12 gr/dl en mujeres, la VSG estuvo elevada en 62,9%, mientras que la PCR estuvo alta en 46,2%. Contrariamente en los casos con leucocitosis (leucocitos mayores a 10.000/mL), la VSG estuvo elevada en 30,6% y la PCR en 48,2%.

## CONCLUSIONES:

1. La VSG es solicitada aproximadamente en el doble de ocasiones que la PCR, solicitándose ambas determinaciones en el 25% de las veces. Este predominio de la VSG es especialmente llamativo en atención primaria.
2. Ambas pruebas resultaron alteradas en un porcentaje similar de ocasiones, predominando la alteración de la VSG en los pacientes con anemia y de la PCR en los pacientes con posibles infecciones.
3. En los casos en que se solicitaron ambas determinaciones, los resultados fueron coincidentes en el 75% de las veces.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 261**

### PUESTA EN MARCHA DE UNA APLICACIÓN INFORMÁTICA PARA UNA GESTIÓN EFICIENTE DE LABORATORIOS CLÍNICOS.

*Autor/a/s: Bernardo Cabeza Barrios. Sebastián Garzón López*

*Centro de trabajo: Hospital de Jerez. Área de Gestión Sanitaria Norte de Cádiz*

*Localidad: Jerez de la Frontera*

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

## RESUMEN:

Los LABORATORIOS CLÍNICOS constituyen una herramienta esencial en la asistencia sanitaria actual, de tal manera que nada o casi nada puede diagnosticarse sin la participación del laboratorio. Esto ha provocado un incremento exponencial del número y complejidad de técnicas disponibles. El número de reactivos, los procedimientos de trabajos, los controles, la exigencia de calidad se incrementan más y más. Además los laboratorios deben estar operativos 24 horas al día, necesitando numeroso personal, especializado y polivalente al mismo tiempo. Finalmente, la situación económica actual hace más compleja aún la gestión de los laboratorios. Se nos exige una gestión eficiente de recursos y se nos solicita una utilización adecuada de los medios.

Los sistemas informáticos disponibles en todos los laboratorios nos suministran abundante información sobre los reactivos utilizados, el dinero consumido y sobre las determinaciones realizadas.

En nuestro laboratorio hemos puesto en marcha una aplicación informática de creación propia, que agrupa y relaciona toda la información recibida, permitiéndonos conocer hasta el mínimo detalle nuestro funcionamiento y detectar y tratar de corregir defectos e ineficiencias, habiendo conseguido año a año una importante reducción de costes y una gestión más efectiva y eficiente.

Nuestra aplicación incorpora 4 grandes aspectos de la gestión de los laboratorios clínicos: PEDIDOS, EQUIPAMIENTO, CONSUMOS y DEMANDA. Así, todos los

técnicos del laboratorio disponen en sus ordenadores de acceso, mediante clave personal, a la aplicación para realizar los pedidos de reactivos necesarios y registrar su llegada, almacenaje y uso. Además, los técnicos referentes de cada uno de los analizadores podrán abrir incidencias y verificar el correcto mantenimiento por parte de las casas comerciales. En la tercera sección, el coordinador del laboratorio cruza los datos de consumos y producción, pudiendo conocer y vigilar los precios reales de cada determinación, la evolución del gasto por secciones y realizar previsiones a final de año, entre otras muchas cosas. Finalmente y de reciente incorporación, realizamos un control de las peticiones realizadas desde cada centro de salud y servicio, realizando comparaciones entre ellos, determinando los perfiles de petición de cada uno y tras relacionarlo a su población de referencia detectar posibles infrausos o sobreusos.

## CONCLUSIONES:

creemos que en la actualidad la complejidad de los laboratorios clínicos exige la implementación de herramientas informáticas para una correcta gestión de los mismos. En nuestro caso, la puesta en marcha de una aplicación diseñada por nosotros y perfectamente adaptada a nuestro laboratorio y nuestros problemas nos ha permitido una clara mejora de nuestra efectividad y eficiencia.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 270**

### ESTUDIO RETROSPECTIVO DE LA DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CRIOGLOBULINAS EN SUERO

*Autor/a/s: ANA FLOR NAVARRO PLAZA, FRANCISCO GARCÍA TIRADOR, MARIA INÉS SERRANO FERNÁNDEZ*

*Centro de trabajo: H. VIRGEN DE LAS NIEVES*

*Localidad: GRANADA*

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

## INTRODUCCIÓN:

Las CRIOGLOBULINAS son un grupo de inmunoglobulinas monoclonales o policlonales que precipitan a temperaturas inferiores a 37°C y tienden a redisolverse después del calentamiento. Están asociadas a enfermedades autoinmunes, infecciosas, renales, hepáticas y linfoproliferativas.

Según la clasificación que Brouet estableció en 1974 se pueden dividir en 3 grupos:

Tipo I: están constituidas por un isotipo de inmunoglobulina monoclonal. Lo más frecuente es que sean tipo IgM e IgG y en menor medida IgA. Están asociadas con enfermedades linfoproliferativas como el mieloma múltiple, la macroglobulinemia y la leucemia linfocítica crónica. Se hallan presentes en altas concentraciones en el suero.

Tipo II: estas constituidas por 2 isotipos diferentes de inmunoglobulinas, generalmente una monoclonal del tipo IgM que se une específicamente a una policlonal del tipo IgG. Suelen ir asociadas a enfermedades autoinmunitarias, linfoproliferativas o infecciosas. Los niveles séricos pueden ser altos o moderados, pero el componente monoclonal es bajo.

Tipo III: constituidas por 2 o más isotipos de inmunoglobulinas policlonales, generalmente IgG-IgM, pudiéndose encontrar otras moléculas como factores del complemento o lipoproteínas. Están asociadas con enfermedades infecciosas como las hepatitis y autoinmunes. Se hallan en concentraciones bajas. La mayoría de las crioglobulinemias pertenecen a este grupo.

## OBJETIVOS:

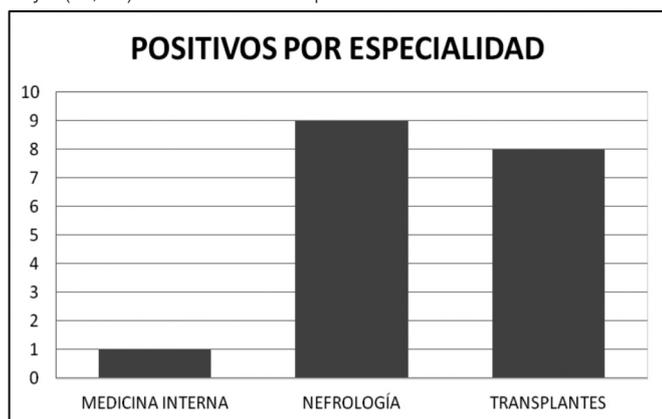
Relacionar el número de estudios positivos realizados durante el año 2013 en el H. Virgen de las Nieves de Granada según la procedencia de la muestra.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

1. Centrifugar tubo de bioquímica problema.
2. Rotular 2 tubos de Wintrobe, echar en cada uno 0.5 ml de suero problema aproximadamente.
3. Dejar un tubo de suero en posición vertical a 4°C y otro a 37°C durante 24 horas (control negativo).
4. Si a las 24 horas se observa precipitado el resultado se informa como Positivo, en caso contrario como Negativo.

## RESULTADOS:

De los 289 estudios realizados durante el año 2013, 18 (6%) dieron positivos, de los cuales sólo 1 fue detectado en un estudio pretransfusional. Por especialidades 9 (50%) de los casos eran de pacientes de nefrología, 1 (5,6%) de medicina interna y 8 (44,4%) de la unidad de trasplantes.



## CONCLUSIONES:

Ventajas: Esta técnica permite un diagnóstico sencillo y muy económico de las crioglobulinemias.

Inconvenientes: Es una prueba lenta que no aporta información sobre la evolución de la enfermedad a la que va asociada.

El aumento del número de positivos en pacientes procedentes de Nefrología viene a corroborar la importancia de las crioglobulinas en las nefritis asociadas con enfermedades sistémicas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 271

## ALGUNOS PARÁMETROS DE CALIDAD EN CONCENTRADOS DE PLAQUETAS EN SOLUCIÓN ADITIVA (SSP+) Y TRATADOS CON TECNOLOGÍA DE REDUCCIÓN DE PATÓGENOS (INTERCEPT®)

Autor/a/s: VÁZQUEZ CASTRO, MARCOS; DELGADO, AZUCENA; GOAS, M<sup>a</sup> CARMEN; DOPICO, EVA; PACHECO, PATRICIA; SUAREZ, ELENA; ISASI, FERNANDA; HERRANZ, CRISTINA; VÁZQUEZ, CARMEN; PRADO, SILVIA; FERNANDEZ, MIGUEL

Centro de trabajo: CENTRO DE TRANSFUSIÓN DE GALICIA

Localidad: SANTIAGO DE COMPOSTELA

Correo electrónico del primer firmante: marcos.vazquez.castro@sergas.es

## INTRODUCCIÓN:

Los procesos de inactivación o reducción de patógenos tienen por objeto inactivar virus, bacterias y parásitos potencialmente presentes en los componentes sanguíneos, especialmente en plaquetas por su temperatura de almacenamiento. El tratamiento que se aplique no debe tener efectos nocivos en el receptor de la transfusión ni tampoco comprometer la eficacia terapéutica del componente tratado. Uno de los tratamientos más estudiados y que se aplican desde hace varios años es el tratamiento fotoquímico con amotosaleno (150 µM) y exposición a luz ultravioleta A.

En nuestro Centro se implantó el proceso de inactivación de plaquetas tanto de aféresis como de Pool, con la tecnología Intercept® en el año 2008. Desde hace casi dos años estamos utilizando la solución aditiva (SA) SSP plus en la elaboración de los pool de plaquetas (CPM=concentrados de plaquetas mezcla).

El objeto de estudio es analizar como los parámetros que chequeamos de manera habitual son consistentes en el tiempo, y nos aportan datos sobre la calidad del producto.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Para la preparación CPM, se procede a la unión de 5 buffy-coat (BC) isogrupo con la SA, SSP plus, que incorpora potasio y magnesio en su composición, esto aporta mejoras en el metabolismo de las plaquetas. La obtención final del CPM (centrifugación, separación y filtración) se hace en el dispositivo Orbisac®, la proporción final de plasma/SA es aproximadamente 35/65. Se mantienen los CPM dos horas en reposo, antes de proceder al tratamiento con Intercept®.

En la sistemática habitual se lleva a cabo la inspección visual del CPM antes de proceder al tratamiento, al día siguiente (día 2º) y en el momento de la distribución.

Como control del proceso se hacen recuentos pre y post inactivación. Además se hace recuento como mínimo al 15% de la producción de los CPMT (concentrados de plaquetas mezcla tratados). Hemos registrado el volumen, recuento celular, MPV (volumen plaquetar medio), determinación del pH a 22°C (pHmetro Crison), valoración macroscópica del remolino (dando puntuación 3 a la presencia de un buen remolino, 2 remolino intermedio y 1 no presencia de remolino), en los días 2º y 7º de almacenamiento.

## RESULTADOS:

En el año 2013 se inactivaron 8755 CPMT, se hicieron recuentos en el 16% de ellos: el volumen medio fue de 329 ml y el nº de plaquetas por unidad de 3.4 x10<sup>11</sup>. El 87,3% de las unidades tienen más de 3 x10<sup>11</sup> plaquetas.

En la tabla siguiente se muestran los datos de 2º y 7º día en algunas unidades

	Volumen(ml)	PQx10 <sup>11</sup> /unidad	MPV (fl)	pH (22°C)	"remolino"
2º día N=130	340 ± 17	3.5 ± 0.41	9 ± 0.38	7.22 ± 0.07	3
7º día N=142	320 ± 33	3.2 ± 0.41	9.1 ± 0.48	7.15 ± 0.10	2.9 ± 0.23

Como era de esperar con los días de almacenamiento las plaquetas sufren algún menoscabo en su calidad y disminuye algo el pH, pero permanece por encima de 6.8 según las recomendaciones de la normativa vigente. También conservan adecuadamente el remolino, lo que traduce el mantenimiento de su forma discoide.

## CONCLUSIONES:

En nuestra experiencia en las condiciones establecidas de obtención y tratamiento de los concentrados de plaquetas procedentes de BC y suspendidos en SA SSP plus, se mantienen propiedades aceptables en el componente hasta el 7º día de almacenamiento.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 272

## CONTROL DE CALIDAD DEL PLASMA TRANSFUSIONAL: FACTORES DE LA COAGULACIÓN

Autor/a/s: Javier Fernández Aneiros, Marta Piñeiro Freire, Ana Aldrey Rey, Ana Baños Rodríguez, Sandra Costoya Coira, Lourdes López Lama, María López Lías, Dolores Pereiro Raposo, Antonio Perez Boo, Susana Pérez Duarte, Rosana Rego Rodríguez, Rosa Rodríguez Suarez

Centro de trabajo: Centro de Transfusión de Galicia Localidad:Santiago de Compostela

Correo electrónico del primer firmante: javier.fernandez.aneiros@sergas.es

## INTRODUCCIÓN:

El control de calidad del plasma transfusional basado en la concentración de los factores de la coagulación proporciona una medida indirecta de la calidad de todos los procesos implicados, desde la flebotomía hasta la congelación del plasma, y asegura una capacidad hemostática adecuada.

## OBJETIVOS:

Comparar los resultados analíticos de los controles de calidad del plasma, realizados en dos años consecutivos en un Centro de Transfusión, para observar la consistencia y posibles tendencias en la calidad de las dos fuentes de plasma de uso transfusional (sangre total y aféresis), antes y después de ser sometido a un proceso fotoquímico de reducción de patógenos con azul de metileno.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se ha analizado el control de calidad de factores plasmáticos de la coagulación de los años 2012 y 2013. Las determinaciones fueron realizadas en muestras de plasma de bolsa congelado usando un coagulómetro Sysmex CA-6000 y las técnicas Siemens: FVIII Chromogenic, FV (plasma deficiente) y Fibrinógeno (coagulativas). Los tipos de plasma medidos fueron: Plasma Fresco Congelado (PFC) y PLasma de Aféresis (PLAF), antes y después de ser inactivados con Azul de Metileno (AM). Los resultados de la tabla 1 se muestran como media, error estándar de la media (eem), mediana y número de determinaciones para cada uno de los tipos de plasma. Se han usado como valores de referencia los estándares 2012 del Comité de Acreditación en Transfusión Sanguínea (CAT), la guía del Consejo de Europa sobre la calidad de los componentes sanguíneos 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 obtenido los resultados que se muestran en la tabla 1:

	FVIII (UI/dl)		FV (%)		Fibrinógeno (mg/dl)		muestras
	media ± eem	mediana	media ± eem	mediana	media ± eem	mediana	
PFC 2012	101,3 ± 1,0	98,0	85,1 ± 0,6	83,7	233,7 ± 1,4	230,4	1034
PFCAM 2012	92,4 ± 1,4	90,2	76,1 ± 1,0	75,3	196,3 ± 2,2	191,9	380
PLAF* 2012	125,0 ± 2,9	118,8	100,3 ± 1,5	100,5	246,0 ± 3,9	242,7	192
PLAFAM 2012	101,1 ± 2,4	98,0	89,6 ± 1,5	89,1	196,8 ± 3,3	194,3	164
PFC 2013	99,7 ± 0,9	96,3	87,2 ± 0,6	84,7	231,0 ± 1,3	228,0	1127
PFCAM 2013	89,7 ± 1,4	86,4	80,9 ± 1,0	77,3	197,9 ± 2,3	193,8	381
PLAF* 2013	121,7 ± 2,5	115,5	99,2 ± 1,5	98,8	243,1 ± 3,7	240,9	199
PLAFAM 2013	100,8 ± 2,1	95,9	93,3 ± 1,3	93,2	200,6 ± 2,8	195,0	203

(\*) El plasma de aféresis es siempre más rico en factores, especialmente en FVIII

## CONCLUSIONES:

1. Los resultados se consideraron satisfactorios para cualquiera de los componentes (>70% del valor de referencia, incluso tras el proceso de reducción de patógenos).
2. No se evidenciaron diferencias significativas entre los valores de los años estudiados.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número 273

## EVOLUCION DE LOS RESULTADOS CONTROL DE CALIDAD EN UNIDADES PLAQUETAS

Autor/a/s: Marta Piñeiro Freire, Javier Fernández Aneiros, Ana Aldrey Rey, Ana Baños Rodríguez, Sandra Costoya Coira, Lourdes López Lama, María López Lías, Dolores Pereiro Raposo, Antonio Perez Boo, Susana Pérez Duarte, Rosana Rego Rodríguez, Rosa Rodríguez Suarez

Centro de trabajo: Centro de Transfusión de Galicia Localidad: Santiago de Compostela

Correo electrónico del primer firmante: marta.pineiro.freire@sergas.es

## INTRODUCCIÓN:

El control de calidad define a aquellas técnicas operativas y actividades encaminadas a evaluar la consecución de los requerimientos de la calidad esenciales para la seguridad transfusional, constituyendo un aspecto fundamental dentro de la actividad de los Centros de Transfusión.

## OBJETIVOS:

Describir, analizar y comparar las diferencias en el control de calidad efectuado a las unidades de plaquetas en un Centro de Transfusión con diez años de diferencia, en los que ha habido una mejora en la automatización y se han implementado las técnicas de inactivación de patógenos.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se ha comparado el control de calidad de plaquetas de pool realizado en los años 2004 y 2013. En el año 2004 los pooles se realizaban a partir de 5 unidades de plaquetas suspendidas en PAS II obtenidas de Buffy-coat (Top-Top) mediante centrifugación diferencial y filtración con equipos de Baxter-Ferwal®. Su caducidad era de 5 días.

En el año 2013 ya se había automatizado el proceso de producción con el sistema Orbisac-Terumo® partiendo de 5 buffy-coats obtenidos por el método Top and Bottom y posterior inactivación de patógenos con amotosalen y luz ultravioleta (Intercep®), lo que ha elevado la caducidad a 7 días.

Fueron analizados los siguientes parámetros al finalizar el período de almacenamiento del componente de plaquetas: volumen medio, rendimiento plaquetario, leucocitos residuales por citometría de flujo y pH. Se usaron como valores de referencia los estándares 2012 del Comité de Acreditación en Transfusión Sanguínea (CAT), la guía del Consejo de Europa sobre la calidad de los componentes sanguíneos 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 objetivado los resultados que se muestran en la siguiente tabla:

Parámetros	2004	2013	Referencia CAT 2012
Nº de unidades analizadas	169	134	≥ 10/mes
Volumen medio	323	315	> 40 mL/0,6 x 10 <sup>11</sup>
Plaquetas media (x 10 <sup>9</sup> /unidad)	299	317	> 2,7 x 10 <sup>11</sup> /U (75%)*
% unidades sobre 240x10 <sup>9</sup> /u.	88%	99%	≥ 90%
% unidades < 1,0x10 <sup>6</sup> /Leucocitos	100%	99%	≥ 90%
pH medio	7,32	7,14	≥ 6,4

(\*) Por la leucodepleción se admite una pérdida de plaquetas en torno al 10-15%

## CONCLUSIONES:

1. Los resultados se consideraron satisfactorios, dentro de los valores de referencia.
2. La reducción de plaquetas por el proceso de la inactivación de patógenos fue compensada por las mejoras tecnológicas introducidas en la producción de los componentes.
3. La variación del pH se justifica por el cambio de soluciones de conservación y la prolongación del tiempo de almacenamiento por la inactivación.
4. No se evidenciaron diferencias negativas, en consonancia con los cambios tecnológicos introducidos para mejorar la seguridad transfusional y la estandarización de la producción.

# INMUNOLOGÍA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 012

## DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

Autor/a/s: Ana Gracia Martínez, Paula Martínez Martínez, Hugo Cortina Colás

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 cuáles 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 incuban las muestras 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 encon-

tramos 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: 015

## INCIDENCIA DE ANTICUERPOS ANTI PÉPTIDOS CÍCLICOS CITRULINADOS EN EL HOSPITAL XERAL DE VIGO

Autor/a/s: Villar Losada, Casimira; Alonso Meira, Natalia; Álvarez Álvarez, María Isabel; Janeiro Varela, Patricia; Rodríguez Murciego, Manuela

Centro de trabajo: Hospital Xeral de Vigo

Localidad: Vigo

Correo electrónico del primer firmante: Casimira.Villar.Losada@sergas.es

### INTRODUCCIÓN:

Los anticuerpos anti Péptidos cíclicos citrulinados (Anti-PCC) son una clase de autoanticuerpos dirigidos contra una o más proteínas del propio individuo. Estos anticuerpos junto con el factor reumatoide son utilizados para el diagnóstico de los pacientes con Artritis reumatoide (siempre teniendo en cuenta la historia y sintomatología del paciente)<sup>1</sup>. Cuando se realizan conjuntamente ambas pruebas, la sensibilidad del 66% y la especificidad es del 96-98%<sup>2,3</sup> para la Artritis reumatoide.

### OBJETIVOS:

Valorar la incidencia de los anti-PCC positivos en los pacientes que acudieron a consulta de reumatología del Hospital Xeral de Vigo con sospecha de Artritis reumatoide en un periodo de 46 meses y su asociación con el sexo y la edad.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Los anti-PCC de isotipo IgG fueron medidos mediante un método semicuantitativo de enzimoimmunoanálisis (DSX™ Automated System CCP IgG Elisa. Axis-Shield Anti-CCP).

El factor reumatoide isotipo IgM fue cuantificado en suero utilizando un método inmunoturbidimétrico automatizado de partículas de látex recubiertas de IgG. (RF Látex. AU5800 Beckman Coulter).

Se analizaron muestras de 818 pacientes (610 mujeres 74,6% y 208 hombres 25,4%) con edades comprendidas entre los 15 y 96 años, de enero de 2010 a noviembre de 2013, son pacientes consultados en la Unidad de Reumatología del Hospital Xeral de Vigo, con síntomas o sospecha de poder padecer Artritis Reumatoide.

## RESULTADOS:

De los 818 pacientes analizados 158 (19,31%) resultaron positivos para la presencia de anti-PCC.

De estas muestras positivas a los anti-PCC, 135 (85,44%) también resultaron positivas para el factor reumatoide.

De los 158 pacientes con resultado positivo para anti-PCC, 116 eran mujeres (73,42%) de los 23 a los 86 años (edad media 56,85) y 42 hombres (26,58%) de los 37 a los 96 años (edad media 62,31).

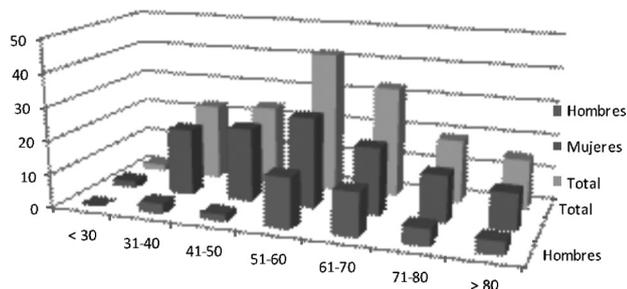


Gráfico 1. Muestras con anti-PCC positivo por edades y sexo

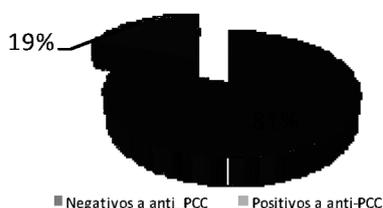


Gráfico 2. Porcentajes de muestras positivas y negativas



Gráfico 3. Porcentajes de positivos por sexo

## CONCLUSIONES:

Aunque la solicitud de anti-PCC se llevó a cabo en pacientes con elevada sospecha clínica, el porcentaje de positividad es tan sólo del 19,31%.

En la población estudiada hay una mayor incidencia de anti-PCC positiva en el sexo femenino en una relación cercana a tres mujeres por cada hombre, lo cual coincide con la documentación sobre el tema<sup>4,5</sup>.

Por edades, la mayor incidencia de resultados positivos se observaron entre los 51 - 60 años para ambos sexos, lo que coincide parcialmente con la bibliografía que habla de una mayor incidencia para la artritis reumatoide entre los 40 - 60 años<sup>6,7</sup>.

## BIBLIOGRAFÍA:

1. Aletaha D., Heogi T., Silman AJ., et al. (September 2010). 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. 2010; 69(9):1580-8
2. C. Valladares Gómez, A. Rus Martínez, M.I. Sánchez-Molina Acosta, M.V. Muruzábal Sitges, A. Elena Ibáñez, L. Borque de Larrea. Medida de los anticuerpos anti-péptido cíclico citrulinado en el diagnóstico de la artritis reumatoide. 2003; 22(6): 397- 402
3. Mezzano, V., Iacobelli, S. Anticuerpos Antipéptido Citrulinado Cíclico. Revista Reumatología. 2007; 23(4):137-141
4. García Vargas, Marianela; Quesada M.; María Soledad (marzo 2004) Artritis reumatoide. Fisiopatología y tratamiento. Serie de Actualización Profesional 2004 de CIMED (Costa Rica: Centro Nacional de Información de Medicamentos)
5. Gómez Rodríguez N. Repercusión socioeconómica de la artritis reumatoide. An Med Interna (Madrid) 2003;20(3):111-113

6. Fraga Mouret, A.; Martínez- Elizondo, P. Programa de actualización continúa para médicos generales. Academia Nacional de Medicina. Parte D. Libro 5. Reumatología.

7. Carmona L. Epidemiología de la artritis reumatoide. Rev. Esp. Reumatol. 2002; 29(3): 86-89

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 017

## HLA-B27

Autor/a/s: M<sup>a</sup> DEL ROSARIO FIGUEROBA GARCIA, M<sup>a</sup> LUISA RODRIGUEZ ESCRIBANO, MARIA CASTILLO LOPEZ, MERCEDES RIUS SANLLEHI

Centro de trabajo: HOSPITAL SAN AGUSTIN DE LINARES

Localidad: LINARES (JAEN)

Correo electrónico del primer firmante: rosariofg@yahoo.es

## INTRODUCCIÓN:

Las células con moléculas HLA-B27 son detectadas para asociar su presencia con espondilitis anquilosante, lupus, uveítis y otras enfermedades reumáticas.

## OBJETIVO:

Conocer el valor de HLA-B27 y relacionar su positividad con enfermedades reumáticas durante el año 2013.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Determinación con citómetro de flujo "FACSCAN" DE Becton Dickinson, método cualitativo de inmunofluorescencia directa, con KIT BD HLA-B27.

## RESULTADOS:

Un 80% de las muestras analizadas en nuestro hospital resultaron negativas, un 12% positivas, pero no todas corresponden a un diagnóstico directo de enfermedades reumáticas.

## CONCLUSIÓN:

Los resultados de HLA-B27 positivos se identifican con dolores musculares y reumáticos, no siendo determinantes pero ayudan al diagnóstico de enfermedades reumáticas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 021

## ESTUDIO DE POLIMORFISMOS EN EL GEN MICA EN PACIENTES CON ALOPECIA AREATA

Autor/a/s: Antonia María Moreno Casares; Inmaculada Delgado Salazar; Eva María Gómez Moreno; Alba Martínez Chamorro; Miguel Ángel López Nevot.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen de las Nieves

Localidad: Granada

Correo electrónico del primer firmante: tmcgranada@hotmail.com

## RESUMEN:

La Alopecia Areata (AA) es una alopecia no cicatricial telogénica de base autoinmune. La prevalencia en España no está bien definida pero se estima entre 0.5 y 1 individuos por cada 1000 habitantes. Afecta por igual a ambos sexos y suele aparecer a edad temprana (entre 5 y 20 años) aunque también se han descrito casos diagnosticados en edad adulta. La etiología y los mecanismos patogénicos de la enfermedad no se conocen todavía pero diversos estudios han demostrado una carga genética que predispone a padecerla (por ejemplo, se ha descrito asociación con HLA-DQ3, DQ7, DR4 y DR11). Además, la AA se suele asociar con otras enfermedades autoinmunes (como la tiroiditis de Hashimoto) y también influyen factores ambientales como el estrés.

MICA (MHC class I chain-related gene A) es un gen localizado en el cluster MHC, entre HLA-B y TNF $\alpha$ . La expresión de MICA en tejidos es muy baja en condiciones normales, pero aumenta considerablemente en situaciones de estrés celular, como shock térmico, infección viral, daño en el DNA o inflamación. MICA es reconocido por el receptor NKG2D, presente en células NK y algunas poblaciones de linfocitos T.

El objetivo del estudio es comprobar si existe asociación entre polimorfismos transmembrana del gen MICA y la susceptibilidad de padecer AA.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se incluyeron en el estudio 59 pacientes diagnosticados de AA y 631 controles sanos. Se extrajo DNA usando métodos estándar de muestras de sangre periférica recogidas en tubos de hemograma con EDTA. El polimorfismo en el exón 5 del gen MICA se analizó por PCR. Los tamaños de los productos de PCR se comprobaron utilizando electroforesis capilar en el secuenciador ABI Prism 3130XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems) y el software GenMapper v4.0.

El análisis estadístico se realizó mediante el test de  $\chi^2$  o F de Fischer cuando fue necesario, con tablas de contingencia 2x2 y utilizando el software SPSS v.15.

## RESULTADOS:

Al analizar las frecuencias alélicas y genotípicas de MICA y comparando la población de enfermos con los controles sanos no se encontraron diferencias significativas que sugieran que polimorfismos en este gen estén asociados a la enfermedad.

Table 1. Frecuencias alélicas del polimorfismo de MICA en el exón 5 de pacientes con Alopecia Areata (AA) y Controles Sanos (CS).

Alelo	AA (2n=118)		CS (2n=1262)		P valor	P <sup>c</sup>	OR (IC: 95%)
	n (%)	%	n	%			
A4	18	15.3	190	15.1	0.954		
A5	10	8.5	159	12.0	0.249		
A5.1	31	26.3	317	25.1	0.783		
A6	50	42.4	434	34.4	0.082		
A9	9	7.6	169	13.4	0.074		

P<sup>c</sup>=P corregida, OR=odds ratio, IC= Intervalo de Confianza

## CONCLUSIÓN:

Si bien es verdad que el tamaño de población de enfermos es muy reducida, y un aumento de la misma aportaría mayor fuerza estadística al estudio. Sucesivas investigaciones son necesarias para clarificar realmente si el gen MICA puede estar implicado en la patogénesis de la AA.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 022

## INFLUENCIA DE POLIMORFISMOS EN CTLA4 Y PTPN22 EN EL TRATAMIENTO CON RIBAVIRINA E IFN EN PACIENTES CON HEPATITIS C

Autor/a/s: Antonia María Moreno Casares; Josefa Gil Valencia; Eva María Gómez Moreno; Alba Martínez Chamorro; Miguel Ángel López Nevot.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen de las Nieves

Localidad: Granada

Correo electrónico del primer firmante: tmcgranada@hotmail.com

### RESUMEN:

La Hepatitis C (HCV) es un grave problema de salud pública, a nivel mundial, ya que se estima que afecta a 120-170 millones de personas. En el 20% de los infectados se pueden desarrollar complicaciones como: cirrosis, fallo hepático y hepatocarcinoma. Además el 40% de los afectados presenta alteraciones extrahepáticas. No obstante hay que señalar que las terapias antivirales, mayoritariamente una combinación de interferón (INF) y ribavirina, han avanzado mucho recientemente. Aunque todavía presentan una media de efectividad de un 50%, que varía según el genotipo viral. De hecho, se estima que la efectividad de la terapia antiviral está entorno a un 45% si el genotipo viral es 1 o 4, un 70% si es 3 y un 80% si el genotipo viral es 2.

En la respuesta inmunitaria frente al virus interviene la inmunidad innata en un primer lugar, destacando el papel de las células NK, y más tarde la respuesta adaptativa, principalmente a cargo de Linfocitos T CD4+ y CD8+. Una de las moléculas que parece jugar un papel destacado en la activación de estas células de la respuesta adaptativa, así como a una mejor respuesta al tratamiento, es el antígeno 4 de los CTL, también conocido como CTLA4. Otra molécula reguladora, la fosfatasa PTPN22 también se ha visto que está implicada en una mejor respuesta o no al tratamiento.

En este trabajo se pretende estudiar cómo variaciones en estos dos genes, CTLA4 y PTPN22, pueden influir en la respuesta al tratamiento en los pacientes.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

En el estudio se incluyeron 351 pacientes con HCV, subdivididos según su respuesta al tratamiento gracias a la monitorización a lo largo del tiempo de la carga viral. Como población control se usaron 764 voluntarios sanos. La extracción de DNA se realizó a partir de muestras criopreservadas extraídas por medio de robot GenoVision M-48 y el Kit MagAttract DNA Blood Mini M48 de Quiagen.

El genotipado de CTLA4 y PTPN22 para polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) se realizó por medio de sondas TaqMan 5' y ensayos de discriminación alélica según el método de genotipado de SNP TaqMan (Applied Biosystems). El análisis de amplificación del SNP se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante. Para la RT-PCR se usaron volúmenes de 5µl conformados por 4 µl de la mezcla de la sonda y la enzima y 1 µl de ADN. Posteriormente la solución se sometió al protocolo de amplificación y análisis con el equipo de ABI Prism 7500. Y finalmente se analizó por medio del software SDS 2.2.1 para discriminación alélica (Applied Biosystems).

## RESULTADOS:

No se encontró ninguna asociación entre la susceptibilidad o protección frente a la infección por el virus de la Hepatitis C y el polimorfismo en PTPN22 ni con respecto a los alelos. Al comparar las frecuencias de los genotipos de PTPN22 entre los pacientes con buena respuesta al tratamiento frente a los no respondedores se detectó que el genotipo GG así como la presencia del alelo G, presentaban una tendencia hacia una respuesta positiva al tratamiento. Sin embargo en ambos casos la diferencia no era significativa.

En el caso de CTLA4, tampoco se encontró ninguna asociación entre la susceptibilidad o protección frente a la infección por el virus de la Hepatitis C. En este caso al comparar las frecuencias de los genotipos de CTLA4 entre los pacientes con buena respuesta al tratamiento frente a los que no respondían al tratamiento se detectó que el genotipo AA así como la presencia del alelo A, presentaban una tendencia hacia una respuesta positiva al tratamiento. Sin embargo en ambos casos la diferencia no era significativa.

## CONCLUSIONES:

Podemos concluir que el genotipado de estas moléculas y otras implicadas en la vías de regulación de la respuesta inmunitaria frente al virus podría ser de gran utilidad a la hora de monitorizar el tratamiento de los pacientes con HCV; sin embargo, son necesarios más estudios que aclaren el papel concreto que juega cada una de estas moléculas y su implicación en la respuesta al tratamiento.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 023

## HLA Y ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

Autor/a/s: Antonia María Moreno Casares; Carmen Amezcua Molero; Eva María Gómez Moreno; Alba Martínez Chamorro; Miguel Ángel López Nevot.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen de las Nieves

Localidad: Granada

Correo electrónico del primer firmante: tmcgranada@hotmail.com

### RESUMEN:

La Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) es un proceso crónico, de etiología desconocida que se caracteriza por la activación no controlada de los elementos de la inmunidad innata y adquirida provocando lesiones en la mucosa intestinal. Las dos manifestaciones clínicas más definidas son la Enfermedad de Crohn (EC) y la Colitis Ulcerosa (CU). La Enfermedad Inflamatoria Intestinal está considerada como un desorden poligénico, en el 5-10% de los casos es familiar mientras que ocurre de manera espontánea en el resto. Los genes HLA (Human Leukocyte Antigen), implicados en la presentación antigénica a linfocitos T, han sido asociados con múltiples enfermedades autoinmunes por lo que son unos buenos candidatos a conferir una susceptibilidad genética en la EII. Estudios previos han relacionado la EII, tanto EC como CU, con los genes HLA; por ejemplo, el alelo DRB1\*01:03 se ha asociado con mayor susceptibilidad de padecer EII y el DRB1\*04:01 ejerce cierto papel protector a padecer CU.

Con este estudio se pretende observar la asociación de los diferentes alelos HLA con la EII en nuestra población.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

En el estudio se incluyeron 314 pacientes con EC, 316 con CU y 671 controles sanos. Se extrajo una muestra de sangre en un tubo de hemograma con EDTA y se extrajo DNA con el extractor de DNA GenoM-48 de Izasa S.A. El sistema de tipaje de HLA se realizó mediante tecnología Luminex. La técnica ADN LABType® SSO proporciona sondas de oligonucleótidos específicos de secuencia inmovilizados en microesferas para la identificación de los alelos de HLA. El análisis estadístico para comparar la distribuciones alélicas y genotípicas entre pacientes y controles se realizó mediante el test de la  $\chi^2$  usando tablas de contingencia 2x2. El análisis estadístico se realizó con el software de Statistical Package for Social Sciences versión 15 (SPSS v.15.0).

## RESULTADOS:

En lo referente a los alelos de HLA y su asociación con la Colitis Ulcerosa, dos alelos del HLA-DRB1 son factores de riesgo; el HLA-DRB\*15:02 y el HLA-DRB\*01:03 siendo este último de mayor relevancia. En el caso de los alelos HLA-DQB1, el DQB\*05:03 y DQB\*06:01 son factores de riesgo frente al DQB\*02:01 y DQB\*03:03 que actúan como factores de protección.

## CONCLUSIONES:

En la Enfermedad de Crohn el alelo HLA-DRB\*01:03 obtiene una estimación del riesgo muy elevada y un p-valor muy significativo mostrando una fuerte asociación actuando como factor de riesgo.

De los resultados obtenidos podemos concluir que, al igual que en estudios previos, en nuestra población se observa una clara asociación de HLA con EI, demostrando una vez más su carácter autoinmune, así como la presencia de alelos con carácter protector (es decir, más frecuentes en población sana que en enfermos) para la enfermedad.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 035**

### ESTUDIO DE HLA EN FAMILIAS DE ENFERMOS CELIACOS

*Autor/a/s: MARIA LUISA SAN FRUTOS CIMAS Y MARIA DEL CARMEN RAMIREZ GARCIA*

*Centro de trabajo: HOSPITAL INFANTIL UNIVERSITARIO NIÑO JESUS*

*Localidad: MADRID*

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

## INTRODUCCIÓN:

Los genes del sistema HLA (HLA-DQ2) se comportan como un marcador de susceptibilidad génica de la enfermedad lo que aumenta el diagnóstico entre los familiares de celíacos y entre pacientes con enfermedades de reconocida asociación a la enfermedad celíaca. La gran mayoría de personas celíacas son HLA-DQA1\*05 y DQB1\*02 (DQ2) y/o HLA-DQB1\*0302 (DQ8).

Aunque sólo un 3% de los DQ2 y/o DQ8 positivo desarrollan la enfermedad celíaca (EC). Por ello la presencia de marcadores genéticos de riesgo no significa que el individuo vaya a desarrollar la enfermedad celíaca (EC), sin embargo, su ausencia permite descartarla debido al alto valor predictivo negativo de la prueba.

Es de interés especial el estudio de dichos marcadores para los grupos de riesgo, entre los que figuran los familiares de primer grado, debido a que poseen un riesgo 20 veces mayor que la población general de padecer enfermedad celíaca.

Determinando dichos marcadores genéticos se puede optimizar el seguimiento de los familiares con HLA compatible y evitar

Pruebas, lo que supone un ahorro económico y sanitario, así como la tranquilidad de dichos familiares.

## OBJETIVO:

Valorar la utilidad del estudio de marcadores genéticos en familiares de primer grado de enfermos celíacos para descartar la enfermedad.

### Material y Métodos

Se han estudiado 95 familias de pacientes celíacos diagnosticados en nuestro hospital, entre mayo-2012 y diciembre- 2013, que corresponden a 172 familiares de primer grado con edades comprendidas entre 1 y 52 años.

La tipificación de los alelos HLA-DQA1\* y HLA-DQB1\* se realizó mediante PCR con hibridación reversa: PCR-SSO (INNO-LIPA®, Innogenetics).

## RESULTADOS:

- 90 personas (52 % de los estudiados) eran padres de enfermos celíacos, (58% madres y 42% padres).

- 82 personas (55 % del total) eran hermanos de pacientes celíacos.

Presentaban HLA compatible con EC

- 118 personas de las cuales eran: 39 madres, 27 padres y 52 hermanos.

- 93 personas eran DQ2, hemos considerado según la ESPGHAN los dobles HLA-DQB1\*02:02 como de riesgo de padecer enfermedad celíaca (78,8 % de los HLA compatibles), 22 personas (18,6%) eran DQ8 y 3 personas eran conjuntamente DQ2 y DQ8 (2.5 %)

Presentaban HLA no compatible con enfermedad celíaca

54 personas de las que eran, 13 madres, 11 padres y 30 hermanos.

## CONCLUSIÓN:

En 54 personas (31.4%) se pueden descartar las revisiones de control de enfermedad celíaca que se realizan periódicamente, evitando el coste de analíticas repetidas, de consultas médicas y la angustia familiar de poder ser celíacos.

118 (68,6 %) personas presentan compatibilidad de HLA para enfermedad celíaca, lo que permitirá hacer estudios más dirigidos, cuando presenten cualquier sintomatología anodina que pueda estar relacionada con esta enfermedad.

El estudio genético permite descartar que pacientes no necesiten controles periódicos de enfermedad celíaca dentro de los familiares de primer grado de pacientes celíacos.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 047**

### DIAGNÓSTICO POR COMPONENTES EN ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA

#### ATENCIÓN ESPECIAL A PANALERGENOS

*Autor/a/s: María Jesús Pagola del Santo; Teresa Plaza García; Marina Lluñcor Salazar; Nátaly Cancelliere Fernandez, Ana Fiandor Roman, Santiago Quirce Gancedo, Teresa Caballero Molina*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario La Paz*

*Localidad: Madrid*

*Correo electrónico del primer firmante: mjesus.pagoladel@salud.madrid.org*

## RESUMEN:

ANTECEDENTES: Los pacientes con esofagitis eosinofílica (EoE) muestran patrones de sensibilización variables. El diagnóstico por componentes (CRD) podría mejorar el diagnóstico y el manejo de estos pacientes. Los microarrays en fase sólida ImmunoCAP (ISAC) permiten la evaluación simultánea de anticuerpos IgE específicos a diferentes alérgenos, posibilitando distinguir la sensibilización primaria de la sensibilización debida a reactividad cruzada. El objetivo de este estudio fue describir el perfil de la sensibilización a alérgenos en pacientes con EoE usando CRD.

## MÉTODOS:

Se han incluido cuarenta y cinco pacientes con diagnóstico confirmado de EoE (82 % hombres). La edad media fue de 36 años en un rango de 15-72. Se midieron, mediante ImmunoCAP ISAC, los anticuerpos IgE específicos frente a 103 y 112 componentes de diferentes alimentos y aeroalérgenos en 40 y 5 casos, respectivamente.

## RESULTADOS:

La sensibilización frente al menos uno de los diferentes componentes se encontró en 43 de los 45 (96 %) pacientes. La sensibilización a aeroalérgenos se observó en 43 pacientes (96 %), siendo el polen el aeroalérgeno más común (93 %). La sensibilización a componentes alérgenos de alimentos de origen vegetal se encontró en 40 pacientes (89 %). La sensibilización más frecuente fue frente a los inhibidores de tripsina (77%), principalmente a Ole e 1 (64 %), seguida de las proteínas de transferencia de lípidos (LTP) (51 %), siendo la más frecuente Pru p 3 (49 %), profilinas (49 %) y a las proteínas relacionadas con la patogénesis (PR-10) (22 %). Menos frecuentes fueron la sensibilización a polcalcina (20 %), determinantes de carbohidratos (CCD) (16%), taumatina (Act d 2) (16 %), albúminas 2S (11%), vicilinas (6,7 %), y leguminas (2,2%). La sensibilización a los

alérgenos de alimentos derivados de animales fue menos frecuente: tropomiosina 7 % y albúmina sérica 2 %.

### CONCLUSIÓN:

La mayoría de los pacientes con EoE están polisensibilizados como se describió anteriormente. Los pólenes fueron los aeroalérgenos más comunes. El alérgeno con más sensibilizaciones fue el inhibidor de la tripsina, presente tanto en los aeroalérgenos como en los alérgenos alimentarios. Los siguientes alérgenos más frecuentes fueron las LTP y las profilinas. Este perfil de sensibilización puede tener un papel patogénico en las EoE, que debe ser estudiado en profundidad.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 049**

### ENFERMEDAD CELÍACA. INCIDENCIA DE UNA CAMPAÑA DE DETECCIÓN PRECOZ. EVOLUCIÓN DE SOLICITUDES Y RESULTADOS.

*Autor/a/s: Ramos Gutiérrez Epifanio, Diego Luengo M. Rosa, Loma Martín Ana M., Lorenzo Bellido*

*Ana M., Nieto del Brio Concepción, Nocito Colón Mercedes.*

*Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario de Valladolid*

*Localidad: Valladolid*

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

### INTRODUCCIÓN:

La enfermedad celíaca (EC) es una enteropatía de base inmune, debida a una intolerancia al gluten de los cereales en personas genéticamente susceptibles. El diagnóstico serológico constituye un método de cribado de individuos con sintomatología y población general.

La Asociación Celiaca de Castilla y León presentó en junio de 2012 una campaña de detección y diagnóstico precoz, con información sobre EC y distribución de paneles en todos los Centros de Salud y hospitales de la Comunidad Autónoma.

### OBJETIVOS:

Evaluar la demanda del perfil de celiacía y los resultados obtenidos en el Área de Salud Valladolid Este durante los años 2011-2013. Determinar la incidencia de esta campaña.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se contabilizan las peticiones realizadas al laboratorio y se valoran los resultados obtenidos durante los 18 meses anteriores y posteriores a la campaña (años 2011, 2012 y 2013).

El despistaje inicial se realiza cuantificando los niveles de anticuerpos anti transglutaminasa (BioSystems) en el analizador DS2 System. Los anticuerpos anti endomisio por inmunofluorescencia indirecta, utilizando portas de esófago de mono (BioSystems), se utilizan como técnica confirmatoria en casos positivos y dudosos. Los niveles de anticuerpos anti gliadina deaminada mediante EliA (Phadia AB) se determinan en niños.

### RESULTADOS:

Durante los 3 años estudiados nos solicitaron 7766 perfiles de enfermedad celíaca, de los cuales 200 (2,58%) fueron positivos. De las muestras positivas 136 (68%) son de mujeres y 64 (32%) de hombres. Pertenecen a niños 123 (61,5%) y las 77 (38,5%) restantes a adultos.

En la tabla 1 se muestran las solicitudes y su procedencia. En la tabla 2 los análisis positivos, su distribución temporal, por edad y nuevos casos detectados.

	Procedencia				
	Hospital Clínico Universitario	Centros de Salud	H. Comarcal de Medina del Campo	Otros	Total
Solicitudes anteriores a la campaña	1802	782	866	54	3504
Solicitudes posteriores a la campaña	1937	1092	1201	32	4262
Variación	7,49%	39,64%	38,68%		21,63%

TABLA 1

	Sueros positivos				
	Totales	En niños	En adultos		
	200	123	Nuevos casos	77	Nuevos casos
Antes de la campaña	101	61	47	40	24
Después de la campaña	99	62	53	37	13

TABLA 2

### CONCLUSIONES:

Las solicitudes de perfil celíaco han aumentado de forma progresiva durante el tiempo estudiado. Los resultados positivos son más frecuentes en mujeres que en hombres y en niños que en adultos, con una relación aproximada de 2:1 en ambos casos.

La influencia de la campaña fue evidente pero con unos resultados poco favorables:

- Las solicitudes aumentaron un 22% aunque varían mucho en función de la procedencia. Desde un ligero aumento en el Hospital Clínico, hasta una subida próxima al 40% en los Centros de Salud o el Hospital de Medina del Campo.
- Los resultados positivos, por el contrario, disminuyen porcentualmente pues su número prácticamente se mantiene estable.
- Los nuevos casos detectados fueron en su mayoría niños y aumentaron ligeramente después de la campaña; sin embargo, disminuyeron a casi la mitad en población adulta.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 055**

### QUANTIFERON-TB

*Autor/a/s: ALMUDENA COLOMO LOPEZ, MARIA VICETNA LOTIRE MORA, GEMA CARPIO BUENO*

*Centro de trabajo:*

*Localidad: JAEN*

*Correo electrónico del primer firmante: nademual\_82@hotmail.com*

### INTRODUCCIÓN:

Quantiferon-TB es una prueba diagnóstica in vitro que permite la detección de infección latente por *Mycobacterium tuberculosis*.

Consiste en la medición del interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) secretado por los linfocitos T estimulados por la exposición a los antígenos ESAT-6, CFP-10 y TB7.7(p4) de *Mycobacterium tuberculosis*. Este tipo de ensayo evalúa la respuesta inmunitaria celular y se le conoce como IGRA (Interferon- $\gamma$  releasing assay).

### OBJETIVO:

Actualizar conocimientos sobre el quantiferon-TB como prueba diagnóstica para la detección de la infección latente por *Mycobacterium tuberculosis*

### METODOLOGÍA:

Revisión bibliográfica en bases de datos Medline, Cochrane.

### RESULTADOS:

Según estudios comparativos con otras pruebas realizadas para detectar la tuberculosis, el quantiferon presenta muchas más ventajas frente a otros:

La prueba QFT no se hace positiva con la vacuna BCG para tuberculosis (TB).

La prueba QFT requiere una sola visita.

No necesita regresar a la clínica para la lectura del resultado. La prueba QFT puede ayudar a eliminar las radiografías de los pulmones innecesarias.

El material necesario consta de tubos de recogida de sangre para tuberculosis y antígenos de control.

Componentes para ELISA

Si su prueba de QFT resulta positiva, significa que hay gérmenes de tuberculosis presentes en su cuerpo. Puede requerir de otros exámenes, incluyendo una radiografía de los pulmones, para determinar si se trata de infección o enfermedad por tuberculosis.

Una prueba de QFT negativa usualmente significa que usted no está infectado(a) con el germen de la tuberculosis; sin embargo, la prueba puede ser falsamente negativa en una persona que ha sido infectada recientemente o que tiene un sistema inmunológico debilitado.

#### CONCLUSIONES:

El quantiferon es la técnica de elección debido a sus ventajas que demuestran los estudios científicos consultados

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 056**

### ANGIOEDEMA HEREDITARIO

*Autor/a/s: COLOMO LÓPEZ ALMUDENA, CARPIO BUENO GEMA, LORITE MORA MARIA VICENTA*

*Localidad: JAEN*

*Correo electrónico del primer firmante: nademual\_82@hotmail.com*

#### INTRODUCCIÓN:

El Angioedema Hereditario es una rara y seria afección genética que se manifiesta en aproximadamente en 1/10.000 a 1/50.000 individuos. Esta enfermedad se caracteriza por episodios de edema en diferentes partes del cuerpo, particularmente en las manos, pies, cara y vías respiratorias. Además, la mayoría de los pacientes experimenta episodios de intenso dolor abdominal, náuseas, y vómitos que son causados por edema de la pared intestinal. Es importante realizar un diagnóstico rápido y fiable.

#### OBJETIVO:

Actualizar conocimientos sobre

Metodología:

Búsqueda bibliográfica en bases de datos Medine y Cochrane.

#### RESULTADOS:

Mediante un análisis de sangre, se debe determinar los niveles de una proteína que les falta, que es el INHIBIDOR DEL C1. Es un análisis sencillo para el paciente, se le extrae sangre y en unos laboratorios especializados, se comprueban los niveles de esta proteína, que suelen estar bajos.

Material necesario:

Placa de microensayo

Solución de parada

Concentrado de solución de lavado

Concentrado de diluyente de muestras

Diluyente de sustrato

Concentrado de sustrato

Conjugado de inhibidor de C1

Reactivo hidratante

Diluyente de conjugado

Reactivo de inhibidor de C1.

Las concentraciones de C1-INH inferiores o iguales al 40 % del valor medio normal se consideran significativamente inferiores a lo normal y, por lo tanto, deben considerarse anormales. Las muestras que dan resultados equívocos al repetir el ensayo también pueden considerarse anormales. Las concentraciones superiores o iguales al 68 % del valor medio normal se consideran normales.

#### CONCLUSIONES:

Esta técnica sencilla es eficaz para el diagnóstico del angioedema hereditario.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 057**

### ENFERMEDAD AUTOINMUNE: LUPUS ERITOMATOSO SISTEMÁTICO

*Autor/a/s: COLOMO LÓPEZ, ALMUDENA/CARPIO BUENO GEMA / LORITE MORA MARIA VICENTA*

*Centro de trabajo: HOSPITAL CAN MISSES*

*Localidad: IBIZA (ISLAS BALEARES)*

*Correo electrónico del primer firmante: nademual\_82@hotmail.com*

#### INTRODUCCIÓN:

El lupus eritematoso sistémico es una enfermedad autoinmunitaria en la que los órganos, tejidos y células se dañan por adherencia de diversos autoanticuerpos y complejos inmunitarios.

#### OBJETIVO:

Conocer los sistemas de análisis ANA por inmunofluorescencia para a detección del lupus erimatoso.

METODOLOGÍA:

Revisión bibliográfica en bases de datos Cochrane y Medline.

#### RESULTADOS:

Se trata de una determinación indirecta por inmunofluorescencia para la detección semicuantitativa de anticuerpos antinucleares (ANA) en suero humano. Este sistema de análisis es fundamental como ayuda en la detección de anticuerpos asociados a las enfermedades tales como el lupus eritomaso sistemático. La muestra utilizada para esta técnica es suero humano. El sistema de análisis de ANA por inmunofluorescencia de Immuno emplea la técnica indirecta de anticuerpos fluorescentes. Las muestras de pacientes se incuban 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. Si no hay ANA en las muestras, el núcleo no presentará un patrón de fluorescencia nuclear claramente discernible.

#### CONCLUSIONES:

En un estudio realizado en el hospital Can Misses de Ibiza en Enero de 2013 a 50 pacientes de los cuales 20 padecían esta enfermedad prácticamente el 100% de los pacientes con lupus tiene esta prueba positiva, lo cual supone que cuando son negativos prácticamente se excluye la existencia de esta enfermedad.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 066**

### DETERMINACIÓN DE PARATHORMONA INTRAOPERATORIA EN EL TRATAMIENTO QUIRÚRGICO DEL HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO

*Autor/a/s: FRANCISCA BORONAT LLORET, MARIA DE LOS REYES GARCIA SANCHEZ, MARIA DEL MAR GARCIA GONZALEZ*

*Centro de trabajo: S.A.S. HOSPITAL LA LINEA*

*Localidad: LA LÍNEA DE LA CONCEPCIÓN*

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

#### INTRODUCCIÓN:

El hiperparatiroidismo primario (HPTP) es una enfermedad que se caracteriza por la producción autónoma de parathormona (PTH) que afecta aproximadamente a un 2% población siendo más común en mujeres en una proporción de 2 a 3 veces mayor y a partir de los 55 años. La causa más frecuente de HPTP es el adenoma solitario de paratiroides.

El diagnóstico bioquímico se establece a partir de hipercalcemia en conjunción con un valor de PTH elevado. Se considerara diagnóstico una hipercalcemia mayor de 10.5 mg/dL y concentraciones de parathormona superiores a 10.5 mg/dL junto con una creatinina inferior a 1.5 mg/dL.

La única posibilidad de curación permanente es la cirugía con la extirpación de las glándulas anormales.

La determinación intraoperatoria de PTH puede resultar de utilidad para confirmar la exéresis de todo el tejido paratiroideo hiperfuncionante, ya que la concentración sanguínea de PTH intacta decrecerá drásticamente en un corto periodo de tiempo tras la exéresis efectiva del tejido hipersecretor.

Por lo tanto con la determinación intraoperatoria se evitaría una extensión innecesaria del procedimiento quirúrgico y se conseguiría una cirugía mínimamente invasiva para el tratamiento del HPTP

El objetivo de este trabajo es describir un caso clínico de hiperparatiroidismo primario en el que se realizó en nuestro laboratorio la determinación urgente de PTH.

#### **MATERIAL Y MÉTODOS:**

Paciente de 52 años diagnosticado de HPTP 1º por adenoma de paratiroides inferior derecha.

Se realiza la determinación cuantitativa de los niveles de hormona paratiroidea intacta (PTH) en suero por un método de quimioluminiscencia de partículas paramagnéticas en el equipo de inmunoquímica Dxi800 ( Beckman Coulter) en modo intraoperatorio con el que se obtiene un resultado en 15 minutos.

Las muestras para la determinación de la PTH se van a obtener en el momento de la inducción analgésica, a los 5 y a los 10 minutos tras la exéresis del adenoma

Se considera que la cirugía ha resultado efectiva cuando se produce un descenso en la concentración de PTH intraoperatoria a los 10 minutos respecto a la basal superior al 50%.

#### **RESULTADOS:**

Caso clínico; Mujer de 52 años diagnosticada de hiperparatiroidismo primario por adenoma de paratiroides inferior derecha, PTH 118 pg/mL (val. ref.: 12-88 pg/mL), Calcio 12 mg/dL (8.8-10.6 mg/dL), creatinina 0.66 mg/dL (0.51-0.99 mg/dL).

Ante la existencia de síntomas clínicos y la baja edad de la paciente se decide realizar la extirpación quirúrgica del adenoma.

Para ello se realiza la localización previa del adenoma por pruebas de imagen, ecografía cervical y gammagrafía paratiroidea, y la determinación intraoperatoria de PTH con el fin de reducir la morbilidad y realizar una cirugía mínimamente invasiva.

El valor de PTH basal, en el momento de inducir la analgesia fue de 124 pg/mL, a los 5 minutos tras la exéresis había bajado a 77 pg/mL y a los 10 minutos a 46 pg/mL.

La intervención se realizó sin complicaciones siendo los niveles de Ca y PTH a las 24 horas normales, (Ca: 8.9mg/dL y PTH 45pg/mL).

La paciente evoluciona favorablemente por lo que es dada de alta

A los 6 meses tras la cirugía los niveles de calcio y PTH han seguido dentro de los valores normales en todos los controles realizados, lo que indica la curación completa de la enfermedad.

#### **CONCLUSIONES:**

La monitorización intraoperatoria de PTH permite la confirmación bioquímica de que todo el tejido paratiroideo hiperfuncionante ha sido resecado, consiguiéndose cirugías menos invasivas, menor tiempo quirúrgico con una menor morbi-mortalidad.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 084**

### **INCIDENCIA DE ALERGIA A LOS ALIMENTOS**

*Autor/a/s: Amparo Guerra Montaña, Victoria Cabeza Arroyo, Olga montero velasco)*

*Centro de trabajo: U.G.C.Laboratorio Clínico, Hospital de la Merced A.G.S.*

*Localidad: Osuna*

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

#### **INTRODUCCIÓN:**

La alergia a los alimentos es una respuesta inmune del organismo cuando entra en contacto con el alérgeno alimentario.

Estas sustancias capaces de provocar una reacción alérgica se les conoce como sustancias alergénicas o alérgenos.

El sistema inmunitario de los individuos alérgicos produce anticuerpos IgE cuando se expone repetidamente a las sustancias alergénicas. A este fenómeno se le denomina sensibilización.

El estudio alergológico es un requisito previo muy importante para el tratamiento específico de la alergia

En termino de identificación precoz y tratamiento específico de la alergia

Existen pruebas de identificación específica del alérgeno responsable de la sintomatología alérgica.

Con una prueba cuantitativa y precisa , se puede detectar precozmente la presencia de anticuerpos IgE,

Haciendo posible definir la mejor estrategia de abordaje para el paciente alérgico.

#### **OBJETIVO:**

Nuestro objetivo es determinar la frecuencia de alergias a los alimentos positivas que hay en la población de nuestro área sanitaria

#### **MATERIAL Y MÉTODOS:**

Hemos realizado un estudio retrospectivo de los años 2011,2012 y 2013 de las solicitudes recibidas de alergias a los alimentos.

Se realiza un test de cribado (FX5) con el analizador fluorométrico Phadia 250 (Thermo Fisher Scientific).

A las muestras cuyo resultado fue positivo al cribado, se les generó un perfil específico a los distintos alimentos (F1) IgE específico a la leche de vaca, (F2) IgE específico al huevo,(F3) IgE específico al bacalao ,(F4) IgE específico al trigo ,(F13) IgE específico al cacahuete , (F14) IgE específico a la soja, utilizando el mismo autoanalizador.

Estas determinaciones se realizan en suero.

#### **RESULTADOS:**

Hemos recibido durante el periodo estudiado 380 solicitudes de las cuales 114 obtuvieron un resultado positivo en el cribado.

De estos 114 cribados positivos, al generarles el perfil, se obtuvieron los siguientes resultados:

- 57% positivos para F1, 61,40% positivos para F2, 22,80% positivos para F3 , 45,61% positivos para F4, 45,61% positivos para F13 Y el 43,82% positivos para F14.

Los resultados obtenidos son cuantitativos, estando el valor de corte en 0.35 KU/L.

#### **CONCLUSIÓN:**

En nuestra Área Sanitaria la mayor incidencia de alergia a los alimentos es respecto a la leche de vaca y la de menor frecuencia es al bacalao.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 087**

### **PREVALENCIA DE CELIAQUIA EN EL AREA NORDESTE DE GRANADA.**

*Autor/a/s: Roldán Peñuela María Jesús, Miranda Roldán Esther, Imbroda Rodríguez María José*

*Centro de trabajo: UGC Laboratorio Hospital Baza*

*Localidad: Baza*

*Correo electrónico del primer firmante: marian.rolدان@hotmail.com*

#### **INTRODUCCIÓN:**

La enfermedad celíaca (EC) es una intolerancia permanente al gluten de trigo, cebada, centeno y probablemente a avena que se presenta en individuos genéticamente predispuestos, caracterizada por una reacción inflamatoria, de base inmune, de la mucosa del intestino delgado que dificulta la absorción de nutrientes. La prevalencia de esta enfermedad es del 1% en la población mundial según bibliografía

#### **OBJETIVOS:**

Conocer la prevalencia de celiaquía en la población atendida en el Hospital de Baza del área Nordeste de Granada.

#### **MATERIAL Y MÉTODOS:**

Se hace un estudio descriptivo transversal con la población que acude al hospital de Baza entre el 1/1/2009 y 31/1/2014 a los que se ha realizado determinación de anticuerpos IgA

antitransglutaminasa previa determinación de IgA total para confirmar no exista déficit de esta para el posterior estudio de anticuerpos.

La determinación de anticuerpos IgA transglutaminasa se llevó a cabo mediante técnica de inmunoquimioluminiscencia, (Liaison Diasorin) y enzimoimmunoanálisis Inmunocap(ThermoFischer).

## RESULTADOS:

Se estudió una población de 1757 pacientes de los cuales 995 fueron mujeres y 753 hombres. Las determinaciones de IgA Transglutaminasa que presentaron positividad fueron de 51 aunque el número de pacientes total fue de 29 (18 mujeres y 11 hombres) ya que algunos fueron controles realizados a los mismos pacientes. La edad de los pacientes osciló entre 1 y 70 años.

La prevalencia en nuestro estudio, fue de  $29/1757=1,6\%$ .

## CONCLUSIONES:

La prevalencia en los casos estudiados de nuestra zona de estudio es ligeramente superior a la de la población mundial.

Existe una mayor predisposición en mujeres y la edad no es factor relevante.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 088**

## PREVALENCIA DEL SÍNDROME DE SJÖGREN EN EL AREA NORDESTE DE GRANADA

*Autor/a/s: Roldán Peñuela María Jesús, Miranda Roldán Esther, Moreno Robles Almudena*

*Centro de trabajo: UGC Laboratorio Hospital Baza*

*Localidad: Baza*

*Correo electrónico del primer firmante: marian.rolan@hotmail.com*

## INTRODUCCIÓN:

EL Síndrome de Sjögren (SS) es una enfermedad inflamatoria crónica, autoinmune, de origen desconocido que se caracteriza por sequedad de ojos y boca además de una hiposecreción de las glándulas de las mucosas orales y oculares. Su evolución es muy lenta y suele afectar principalmente a mujeres de mediana edad. La prevalencia del SS según la clasificación del grupo de consenso Americano-Europeo es de alrededor del 0,2% en adultos. Se considera caso positivo de SS aquel que presenta anticuerpos antinucleares SS-A Ro y SS-B La positivos además de patología compatible con síndrome de ojo seco.

## OBJETIVOS:

Conocer la prevalencia del SS en la población atendida en el Hospital de Baza del área sanitaria nordeste de Granada.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se describen los resultados de población que acude al Hospital de Baza en el período de tiempo desde el 1/1/2009 a 31/1/2014 a los que se ha realizado determinación de anticuerpos antinucleares y estos son positivos.

La determinación de anticuerpos antinucleares (screening) se llevó a cabo mediante técnica de inmunoquimioluminiscencia, Liaison (Diasorin) y enzimo-inmunoanálisis inmunocap (Thermo Fischer). Las muestras que son positivas se las somete a ensayo inmunolineal (Human) blotdot con 17 antígenos ensayados.

El estudio evalúa aquellos pacientes que muestran valores positivos a los antígenos SS-A (Ro 52 y 60 KD) y SS-B (La), cuya presencia es determinante en el SS junto a otros signos clínicos.

## RESULTADOS:

Se estudió una población de 3758 pacientes a los que se solicitó prueba de ANAs de los cuales 498 dieron positivo (13,25%) a la prueba de screening siendo 391 mujeres y 106 hombres y en 1 no constaba identificación.

Las determinaciones que presentaron positividad a SS-A (Ro 52 y 60 KD) y SS-B (La) fueron 18, aunque el número de pacientes total fue 9 (8 mujeres y 1 hombre) ya que algunos de los resultados positivos fueron controles realizados a mismos pacientes. La edad de los pacientes osciló entre los 45 y 65 años.

De los 9 pacientes y según la historia clínica 4 presentaban como posible diagnóstico S.Sjögren los otros 5 bien se les diagnosticó como Lupus, artralgias o fenómeno de Raynaud y HAI.

## CONCLUSIONES:

El SS en el área nordeste de Granada en el período estudiado tiene una prevalencia de  $9/3758=0,23\%$  de positivos a anticuerpos SS-A (Ro52y 60 KD) y SS-B (La) y una prevalencia de SS de  $4/3758=0,10\%$  lo que concluimos como baja prevalencia.

Se observa que hay una mayor proporción de SS en el género femenino y de una edad mediana, tal como recoge la bibliografía.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 094**

## EL FENOTIPO MHC-I DETERMINA LA CAPACIDAD ONCOGÉNICA DE LAS CÉLULAS TUMORALES DE UN FIBROSARCOMA MURINO.

*Autor/a/s: Linares Dickler Isabel, Ana Isabel Rodríguez Fernández, Javier Carretero Coca, Irene Romero García.*

*Centro de trabajo: Servicio de Análisis Clínicos e Inmunología. UGC Laboratorio Clínico. Hospital Universitario Virgen de las Nieves.*

*Localidad: Granada*

*Correo electrónico del primer firmante: isa80ld@hotmail.com*

## INTRODUCCIÓN:

En nuestro laboratorio generamos un modelo tumoral murino denominado GR9. Es un fibrosarcoma inducido químicamente con 3-metilcolantreno (MCA), el tumor primario se adaptó a cultivo celular sin ningún pase in vivo. A partir de este tumor primario se han conseguido obtener un conjunto de clones celulares empleando el método de pesca. Estos clones se diferencian en su expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I (MHC-I) y son representativos de la heterogeneidad de un tumor primario.

## OBJETIVO:

Hemos seleccionado cuatro clones con diferentes niveles de expresión de moléculas MHC-I que denominaremos: A7, B7, C5 y B11. Nuestro objetivo es establecer si los niveles de MHC-I correlacionan con la capacidad oncogénica in vivo.

## MÉTODOS:

- Niveles de expresión en superficie de las tres moléculas MHC-I por citometría de flujo, usamos anticuerpos monoclonales de la ATCC.

- Ensayo de crecimiento local in vivo: grupos de 10 ratones singénicos Balb/c sometidos a inyección subcutánea en la almohadilla plantar de una suspensión celular de 625.000 cel./ratón. El diámetro mayor de los tumores se mide tres veces por semana.

## RESULTADOS:

Al estudiar la expresión en superficie de las moléculas MHC-I por citometría de flujo, los resultados muestran que el clon GR9-A7 presenta una expresión positiva para las tres moléculas MHC-I ( $K^d$ ,  $D^d$  y  $L^d$ ). El clon GR9-B7 también muestra la expresión positiva de las tres moléculas, aunque los niveles de expresión son más bajos que para el clon GR9-A7. GR9-C5 presenta muy baja expresión de moléculas MHC-I  $K^d$  y  $D^d$ , siendo negativa su expresión para la molécula  $L^d$ . Por último, GR9-B11 es el más negativo, presenta expresión positiva muy débil únicamente para la molécula  $K^d$ .

Comparamos la capacidad oncogénica in vivo de estos cuatro clones utilizando una dosis de células muy baja ( $6,25 \times 10^5$  células), para evitar que un rápido crecimiento enmascare las diferencias. Todas las líneas celulares crecieron in vivo a nivel local y los tumores fueron extirpados cuando el diámetro alcanzó 10 mm, con el fin de evitar el sufrimiento de los animales. Los tumores locales de los ratones inyectados con GR9-C5 y B11 comenzaron a crecer 8 días después de la inyección y se retiraron el día 23 y 28, respectivamente. Por el contrario, los clones con mayor expresión de moléculas MHC-I, GR9-A7 y B7, comenzaron a crecer localmente más tarde, en los días 14 y 16 después de la inyección, respectivamente, y fueron retirados el día 39. El análisis de los resultados muestran que los tumores generados a partir de la inyección de clones con una expresión más positiva de las tres moléculas H-2 de clase I, GR9-A7 y B7 clones, creció notablemente más lento que los tumores locales generados por clones con niveles muy bajos de moléculas MHC-I (GR9-C5 y B11).

## CONCLUSIÓN:

Los resultados muestran que existen una correlación inversa entre la capacidad oncogénica de estas líneas tumorales y su expresión en superficie de moléculas MHC de clase I.

## EL FENOTIPO MHC-I PUEDE DETERMINAR LA CAPACIDAD METASTÁSICA DE LAS CÉLULAS TUMORALES DE UN FIBROSARCOMA MURINO.

Autor/a/s: Linares Dickler Isabel, Ana Isabel Rodríguez Fernández, Javier Carretero Coca, Irene Romero García.

Centro de trabajo: Servicio de Análisis Clínicos e Inmunología. UGC Laboratorio Clínico. Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

Localidad: Granada

Correo electrónico del primer firmante: isa80ld@hotmail.com

### INTRODUCCIÓN:

En el momento del diagnóstico, el tumor primario contiene múltiples poblaciones de células genéticamente inestables con tasas de crecimiento, inmunogenicidad, sensibilidad a fármacos, capacidad invasiva y metastásica diversas. La comprensión de los mecanismos responsables del desarrollo de la heterogeneidad biológica en los tumores y el proceso que conduce a las células a invadir, llegando a extender a otros órganos, debe seguir siendo un objetivo primordial de la investigación.

### OBJETIVO:

Estudiar si existe correlación entre los niveles de expresión superficial de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I (MHC-I) y la capacidad metastásica de cuatro líneas tumorales de un fibrosarcoma murino.

### MÉTODOS:

- Líneas celulares: seleccionamos cuatro líneas tumorales murinas con diferente fenotipo inmunológico: GR9-A7 expresa un elevado nivel de moléculas MHC-I, GR9-B7 expresa niveles de expresión intermedios, GR9-C5 bajos niveles y finalmente GR9-B11 con expresión prácticamente negativa.

- Citometría de flujo: usamos anticuerpos monoclonales de la ATCC: MHC-K<sup>d</sup> (K 9.18), D<sup>d</sup> (34.5.8) y L<sup>d</sup> (28.14.8).

- Ensayo de metástasis espontáneas: grupos de cinco ratones Balb/c singénicos sometidos a inyección subcutánea de diferentes dosis de células tumorales en la almohadilla plantar de una pata. Tras extirpar el tumor local, los ratones fueron sacrificados entre los 40-50 días. Se realizó la autopsia y determinó el número de metástasis.

### RESULTADOS:

Para determinar las diferencias en capacidad metastásica in vivo, se realizaron ensayos de metástasis espontáneas. Para estos ensayos se inyectaron cuatro dosis diferentes de cada línea celular (5 x 10<sup>6</sup>, 2.5 x 10<sup>6</sup>, 1.25 x 10<sup>6</sup> y 6.25 x 10<sup>5</sup> células) en grupos de cinco ratones. De esta manera, queremos determinar el efecto de la dosis de células en la capacidad metastásica. En todos los grupos los tumores crecieron a nivel local y fueron extirpados cuando el diámetro alcanzó 10 mm, posteriormente los ratones fueron monitorizados semanalmente y sacrificados cuando mostraron signos de enfermedad. La autopsia reveló que el 100% de los ratones inyectados con una dosis de 5 x 10<sup>6</sup> células estaban libres de metástasis. Este resultado puede deberse a la rapidez del crecimiento del tumor local (menos de doce días), lo que impidió la propagación de las metástasis que es un evento tardío. El 100% de los ratones inyectados con la línea celular GR9-B11 (células con menor expresión de moléculas MHC-I) no presentaron metástasis, mostrándose como la línea celular con menor oncogenicidad. En contraste, las células GR9-A7 (células con mayor expresión de moléculas MHC-I) son la que mostraron mayor oncogenicidad, generando metástasis en los ganglios linfáticos (LNM, rango, 1-3) y metástasis pulmonares (PM) (rango, 1 - > 50). La línea celular GR9-B7 mostró una oncogenicidad intermedia, generando PM (rango, 1-6). Y por último las células C5-GR9 presentaron una oncogenicidad muy baja, generaron metástasis en sólo tres ratones del total inyectados, (PM, rango, 1-3). En resumen, atendiendo a su capacidad metastásica in vivo se clasifican: A7> B7> C5> B11.

### CONCLUSIÓN:

Los resultados de ensayos in vivo indican claramente que existe una relación directa entre la capacidad metastásica y la expresión en superficie de moléculas MHC-I.

## ANÁLISIS DE LOS NIVELES TRANSCRIPCIONALES DE LOS COMPONENTES DE LA MAQUINARIA DE PROCESAMIENTO ANTIGÉNICO Y LA EXPRESIÓN EN SUPERFICIE DE LAS MOLÉCULAS DEL COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD DE CLASE I.

Autor/a/s: Linares Dickler Isabel, Ana Isabel Rodríguez Fernández, Javier Carretero Coca, Irene Romero García.

Centro de trabajo: Servicio de Análisis Clínicos e Inmunología. UGC Laboratorio Clínico. Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

Localidad: Granada

Correo electrónico del primer firmante: isa80ld@hotmail.com

### INTRODUCCIÓN:

La regulación a la baja o la pérdida de expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I (MHC-I) se asocia con lesiones invasivas y metastásicas. La aparición de estas variantes defectuosas es consecuencia de la escultura inmunológica de las lesiones tumorales. Los mecanismos que intervienen en la pérdida de expresión de MHC-I incluyen entre otros, la regulación a la baja de algunos de los genes implicados en la formación y estabilización de las moléculas del MHC.

### OBJETIVO:

Establecer si existe correlación entre los niveles de expresión en membrana de las moléculas MHC-I (K<sup>d</sup> D<sup>d</sup> y L<sup>d</sup>) y los niveles transcripcionales de los componentes de la maquinaria de procesamiento antigénico de péptidos (Tap-1, Tap-2, LMP-2, LMP-7, Tapasina, Calreticulina y Calnexina), cadenas pesadas (K, D y L) y  $\beta$ 2-microglobulina.

### MÉTODOS:

- Citometría de flujo: anticuerpos contra las cadenas pesadas H-2 K<sup>d</sup> (K 9.18), D<sup>d</sup> (34.5.8) y L<sup>d</sup> (28.14.8) obtenidos de la ATCC. Software CellQuest.

- RT-PCR a tiempo real: análisis cuantitativo en tiempo real para los genes por medio del Sistema Fast 7500 (Applied Biosystems). Como genes control GAPDH y  $\beta$ -actina. Los valores se expresaron como media  $\pm$  SD.

Resultados: Al estudiar la expresión en superficie de las moléculas MHC-I por citometría de flujo, los resultados muestran que el clon GR9-A7 presenta una expresión positiva para las tres moléculas MHC-I (K<sup>d</sup>, D<sup>d</sup> y L<sup>d</sup>). El clon GR9-B7 también muestra la expresión positiva de las tres moléculas, aunque los niveles de expresión son más bajos que para el clon GR9-A7. GR9-C5 presenta muy baja expresión de moléculas MHC-I K<sup>d</sup> y D<sup>d</sup>, siendo negativa su expresión para la molécula L<sup>d</sup>. Por último, GR9-B11 es el más negativo, presenta expresión positiva muy débil únicamente para la molécula K<sup>d</sup>. En resumen, GR9-A7 expresa altos niveles de moléculas MHC-I, GR9-B7 expresa niveles intermedios, GR9-C5 niveles bajos y, por último GR9-B11 tiene una expresión prácticamente negativa para las moléculas MHC-I. En todos los casos, la expresión de las tres moléculas MHC-I fueron inducidas después del tratamiento con IFN-g, lo que indica la ausencia de defectos estructurales.

Analizamos los niveles transcripcionales de los componentes de la APM (LMP-2, LMP-7, Tap-1, Tap-2, Tapasin, calnexina y Calreticulina), de las cadenas pesadas (K, D y L) y por último de  $\beta$ 2-microglobulina, para las cuatro líneas celulares. Los resultados mostraron que la línea celular GR9-B7 presentaba unos niveles transcripcionales de los genes calreticulina, LMP2 y LMP7 menores a los del fibrosarcoma GR9-A7 (mayor expresión MHC-I). En la línea celular GR9-C5 se encontraron bajos niveles transcripcionales de los genes Tap-1, Tap-2 y Tapasina en comparación con GR9-A7. Finalmente, la línea celular GR9-B11 (MHC-I prácticamente negativa) los genes regulados negativamente fueron: calreticulina, LMP2, Tap-1 y Tapasina. Los niveles de cadena pesada L<sup>d</sup> si correlacionaron con la expresión en superficie del complejo MHC.

### CONCLUSIÓN:

De acuerdo con estos hallazgos, los fenotipos MHC-I observados en los clones B7, C5 y B11 del sistema tumoral GR9 se deben principalmente a la regulación a la baja de algunos de los componentes del APM.

## PROCALCITONINA (PCT) COMO MARCADOR EN LA INFECCIÓN BACTERIANA SISTÉMICA

Autor/a/s: *Hermosín Guardado Encarnación, Vázquez Barba Isabel Dolores, Gandía Gonzalez María Aránzazu.*

Centro de trabajo: *Hospital de Riotinto*

Localidad: *Minas de Riotinto (Huelva)*

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

### INTRODUCCIÓN:

La procalcitonina (PCT) es una proteína de 116 que en caso de infecciones bacterianas va a ser producida por macrófagos y monocitos de distintos órganos. La PCT es ante todo un indicador de la infección bacteriana sistémica. Tras la infección aparecen niveles aumentados en sangre a las 2-3 horas, alcanzando un pico a las 6 horas y presentando una vida aproximada de 24 horas.

OBJETIVOS: Determinar la PCT como marcador precoz, sensible y específico de las infecciones bacterianas, así como su valor pronóstico en el seguimiento de la infección, debido a que la intensidad de la agresión microbiana es proporcional al aumento de la proteína PCT.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

B.R.A.H.M.S PCT-Q. Prueba inmunocromatográfica para la determinación de la PCT en suero y plasma humano, en el tratamiento de la infección bacteriana grave y la septicemia, arrojando resultados a los 30 minutos de su realización. Se realiza aplicando el suero problema a la tira de prueba, donde se produce una reacción antígeno anticuerpo que se mueve por capilaridad a través del sistema de prueba, donde el complejo de Ac. de Ag. marcados se une a los Ac. anticalcitonina fijados, formando un complejo de tipo sándwich, que se aprecia mediante una franja de color rojizo cuya intensidad es directamente proporcional a la concentración de PCT de la muestra.

Los intervalos de lectura pasados 30 minutos son < 0.5ng/ml (donde no se aprecia franja de color), ≥0.5ng/ml, ≥ 2ng/ml, ≥ 10ng/ml, y se mide comprobando la intensidad del color de la franja de la prueba con los bloques de color de la tarjeta de referencia.

### RESULTADOS:

En pacientes sanos los valores en sangre de PCT son <0.5ng/ml (no se excluye una infección bacteriana local). Valores >0.5ng/ml son considerados patológicos, presentando entre 0.5ng/ml y 2ng/ml una elevación leve, de 2ng/ml a 5ng/ml se considera un nivel elevado y valores >5ng/ml niveles muy altos de PCT, existiendo mayor riesgo de evolución hacia la infección sistémica severa, siendo un valor > 10ng/ml indicativo casi exclusivo de sepsis grave, choque séptico y síndrome de disfunción multiorgánica.

Se procesan 42 sueros procedentes de UCI y urgencias para la determinación de PCT durante los meses de octubre a diciembre de 2013. De estas muestras 29 tienen un valor <0.5ng/ml y 13 dan valores positivos, de los cuales 8 dan un valor ≥0.5ng/ml, 4 un valor ≥2ng/ml y 1 da un valor ≥10ng/ml. De donde se desprende que el 69% de las muestras estudiadas fueron negativas frente al 31% que fueron positivas. De éstas, el 19.2% con valor ≥0.5ng/ml, 9.5% ≥2ng/ml y 2.3% ≥10ng/ml. Gracias a esta técnica se puede tratar de forma temprana la infección disminuyendo en gran medida la probabilidad de desarrollar una sepsis grave.

### CONCLUSIONES:

La PCT es ante todo un indicador de la infección bacteriana sistémica capaz de identificar de forma precoz la etiología del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), acortar el tiempo de diagnóstico, evaluar la efectividad del tratamiento antibiótico gracias a las determinaciones seriadas, así como evaluar la evolución de la infección.

## ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DEL VIRUS PAPILOMA HUMANO

Autor/a/s: *ESTHER MIRANDA ROLDÁN, IRENE CHICA MORAL, MIGUEL ÁNGEL GONZALEZ AGUILAR*

Centro de trabajo: *(Insertar nombre del Centro de Trabajo)*

Localidad: *(Localidad Centro Trabajo)*

Correo electrónico del primer firmante: *esther.miranda.87@gmail.com*

### INTRODUCCIÓN:

El virus del papiloma humano (VPH) representa una de las infecciones de transmisión sexual más común, conociéndose más de 100 tipos virales que, en relación a su patogenia oncológica, se clasifican en tipos de alto y de bajo riesgo oncológico.

La mayoría de las infecciones por VPH desaparecen por sí solas en dos años, pero algunas veces permanecen y pueden causar graves problemas de salud como, cáncer de cuello de útero, vulva, vagina, pene, ano, así como carcinoma bucofaríngeo y verrugas genitales.

En el 2008 se implantó la vacunación frente a VPH en el calendario vacunal para niñas de 11-14 años. La vacuna tretravalente protege frente a VPH16, VPH18 / VPH6 Y VPH11 (alto/ bajo riesgo)

El objetivo de nuestro estudio es conocer la distribución de genotipos de VPH en pacientes mayores de 35 años estudiadas en el Proceso de Cáncer de Cérvix de la provincia de Jaén

### MATERIALES Y MÉTODOS:

El screening de VPH se realiza mediante una extracción del ADN viral y posterior hibridación con una sonda ARN y captura de híbridos (HC2 (Digene-QuiaGen®). Con esta técnica detectamos aquellas muestras donde existe VPH de alto riesgo.

A las muestras positivas se realiza estudio de genotipos mediante PCRReal Time (Sacace®-Cefeid SmartCycler®), que detecta los genotipos 16-18-31-33-35-39-45-51-52-56-58 y 59.

Se han analizado 2250 muestras de cepillado cervical (DNAPap o HC, escobillón con medio de transporte) correspondientes a 1967 pacientes.

### RESULTADOS:

Se ha detectado VPH de alto riesgo en 550 muestras, 24,87% de las analizadas. El 64,16% de las pacientes presentaron infección mixta.

### CONCLUSIONES:

La captura de híbridos es una técnica precisa para la detección de ADN del VPH

El genotipo más frecuente es el 16 presente en el 24,48% de las pacientes.

Existe un elevado porcentaje de infecciones mixtas en nuestra población.

Los estudios epidemiológicos de VPH son importantes para conocer el seguimiento de la cobertura vacunal.

## URTICARIA, UN PROBLEMA COMUN

Autor/a/s: *ANA AGUDO MORENO, MARIA CAPILLA ORTEGA PEREA, ANTONIA MONTENEGRO CORREDERA, CONCEPCION VEGA VARGAS, LUCIA ALBA BUENO*

Centro de trabajo: *HOSPITAL SAN AGUSTIN*

Localidad: *LINARES*

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

### INTRODUCCIÓN:

La urticaria es una enfermedad caracterizada por una erupción cutánea conocida como habones que podemos clasificar como aguda o crónica en función de la duración de dichos habones.

Urticaria Aguda es aquella en la que los habones perduran horas o días y Urticaria Crónica cuando la duración de los mismos se prolonga más de seis semanas.

Las causas de las mismas son múltiples y pueden estar mediadas o no por mecanismos inmunológicos.

### OBJETIVOS:

Analizar la etiología de base inmunológica en la urticaria crónica en pacientes de nuestra zona de actuación.

### MATERIALES Y MÉTODOS:

Se analizaron muestras séricas de 100 pacientes, 52 mujeres y 48 hombres, de edades comprendidas entre 40 y 45 años; con un diagnóstico de urticaria crónica y provenientes de la consulta de alergología. Se determinaron factores séricos del complemento C3, C4, C1inh; IgE total y específica; anticuerpos anti-tiroideos y anticuerpos antinucleares. Los resultados se valoraron con el programa informático OPEN LAB.

## RESULTADOS:

A la luz de los resultados obtenidos se constató que ningún paciente presentaba urticaria por déficit de factores del complemento pero sí que un número elevado de pacientes presentaba IgE específica frente a diversos alérgenos; siendo los alimentarios y el anisakis los más representativos.

En cuanto a los autoanticuerpos se refiere, sólo 5 pacientes mostraron anti-tiroideos y 27 presentaron antinucleares a título bajo.

## CONCLUSIONES:

En vista de los datos obtenidos podemos concluir que en el grupo objeto de estudio, la principal causa etiológica de urticaria es la inmunológica mediada por IgE; siendo la principal la relacionada con el anisakis.

Aunque no olvidamos que un grupo notable de pacientes presentó ANAs y Ac-Tiroideos como responsables del cuadro urticarial.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 137**

### REORDENAMIENTO DE TCR- $\gamma$ EN ESTUDIOS DE CLONALIDAD DE LINFOCITOS T. ADAPTACIÓN Y RESULTADOS DE LA METODOLOGÍA BIOMED-2 EN EL SISTEMA CEQ8000

*Autor/a/s: Fernández Chamorro, Alicia; Lagarda Ortiz, Lourdes; Lara Ruiz, José Manuel; Romero González, José Luis; García Gonzalez, Teresa; Burillo, Sergio; García Lozano, José Raúl*

*Centro de trabajo: Servicio de Inmunología. H.U. Virgen del Rocío*

*Localidad: Sevilla*

*Correo electrónico del primer firmante: jraul.garcia.sspa@juntadeandalucia.es*

## INTRODUCCIÓN:

En los procesos linfoproliferativos de células T es necesario discriminar entre un proceso infeccioso o reactivo y un proceso neoplásico de células T. En los procesos neoplásicos las células malignas tienen un origen clonal común y el estudio del reordenamiento del gen TCR- $\gamma$  es ampliamente utilizado para los estudios de clonalidad. TCR- $\gamma$  se reordena en >90% de las leucemias linfoblásticas agudas de células T (LLA-T), linfocitos T granulares grandes y leucemia prolinfocítica de células T (LPT), y en un 50-75% de micosis fungoide/síndrome de Sezary. La clonalidad del gen TCR- $\gamma$  se estudia mediante PCR con cebadores marcados y electroforesis capilar.

## OBJETIVOS:

Existen kits comerciales para equipos de electroforesis capilar de Applied Biosystems. El objetivo de este trabajo es adaptar en nuestro laboratorio la metodología utilizada por el grupo de estudios europeos BIOMED-2 al equipo de electroforesis capilar CEQ8000 system (Beckman Coulter).

## MATERIALES Y MÉTODOS:

Treinta y cuatro pacientes con linfocitosis T fueron incluidos en el estudio. Los cebadores utilizados, basados en el BIOMED-2, fueron marcados con fluorocromos D3 y D4 para el sistema CEQ8000. En caso de reordenamiento clonal solo uno o dos (reordenamiento bi-alelico) fragmentos son amplificados, comparado con una distribución Gaussian de los tamaño de fragmento presente en las muestras no clonales.

## RESULTADOS:

De los 34 pacientes estudiados 7 de ellos presentaban reordenamiento clonal del gen TCR- $\gamma$ , presentando un solo pico en 5 de los casos y 2 picos (correspondientes al reordenamiento bi-alelico) en los otros dos casos. Estos resultados fueron confirmados en un segundo estudio con idénticos resultados del tamaño de los fragmentos. Con respecto al diagnóstico, dos pacientes presentaban síndrome de Sezary y los otros 4 fueron diagnosticados de linfomas T.

## CONCLUSIONES:

En nuestra experiencia, la adaptación de la metodología del BIOMED-2 para estudiar clonalidad de células T al equipo de electroforesis capilar CEQ8000 es fiable y reproducible, permitiéndonos una identificación inequívoca de la mayoría de los reordenamientos de células T clonales.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 138**

### RACIONALIZACIÓN DE LAS DETERMINACIONES DE ALERGIA EN ATENCIÓN PRIMARIA

*Autor/a/s: Romero González, José Luis; Fernández Chamorro, Alicia; Santos Martín, Cristina; Romero Díaz, Manuela; Milán Valverde, María Luisa; García Lozano, José Raúl*

*Centro de trabajo: Servicio de Inmunología. H.U. Virgen del Rocío*

*Localidad: Sevilla*

*Correo electrónico del primer firmante: jraul.garcia.sspa@juntadeandalucia.es*

## INTRODUCCIÓN:

En los pacientes adultos procedentes de Atención Primaria con sospecha de alergia a neoalérgenos, la prueba analítica más utilizada es la determinación de niveles de IgE específica frente a una mezcla que contiene el 98% de los alérgenos responsables de las enfermedades alérgicas respiratorias. Posteriormente, si el resultado es positivo, se determinan los niveles de IgE específica frente a los neoalérgenos más prevalentes en nuestra área.

## OBJETIVOS:

Seleccionar el panel mínimo de neoalérgenos que sería necesario estudiar para cubrir el 90% de las causas de alergia respiratoria en el área de Sevilla.

## RESULTADOS:

Base de datos de los estudios de IgE específicas frente a neoalérgenos realizados en Atención Primaria durante el año 2013, del Servicio de Inmunología del Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla.

## RESULTADOS:

En el año 2013, en Atención Primaria, se realizaron 12.282 determinaciones de IgE específica frente a la mezcla de neoalérgenos, de ellas, 5.527 (45%) fueron positivas. En las muestras positivas se estudió individualmente un panel de los 9 neoalérgenos más prevalentes en nuestra área y que cubren >95% de las causas de alergia respiratoria: ácaros, alternaria (hongo), caspa de perro y gato, polen de olivo y plátano de sombra (árboles), lolium (gramíneas), artemisia y parietaria (malezas). En total se realizaron 49.743 determinaciones (5.527x9). Estudiando estos resultados se observó que 1) la alergia al olivo y gramíneas es la más prevalente y supone el 80% de los pacientes con alergia respiratoria; 2) el 80% de los pacientes presentan alergia frente a más de un neoalérgeno y 3) estudiando IgE específica frente a ácaros, olivo, gramíneas y perro podemos diagnosticar el 90% de los pacientes con alergia respiratoria.

## CONCLUSIONES:

La disminución del panel de 9 neoalérgenos que utilizamos actualmente a 4, no supondría una gran disminución en el porcentaje del diagnóstico de alergia respiratoria en adultos, pero sí supondría una disminución del 66% en el número de determinaciones y por consiguiente, en el gasto.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 144**

### NUEVAS TÉCNICAS DE ESTUDIO DE ANTICUERPOS ANTI-HLA EN PACIENTES SENSIBILIZADOS

*Autor/a/s: Santos-Martín Cristina, Serrano-Pérez Ana María, Abad-Molina Cristina, Núñez-Roldán Antonio, González-Escribano María Francisca*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen del Rocío*

*Localidad: Sevilla*

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

## INTRODUCCIÓN:

La presencia de anticuerpos (Acs) anti-HLA en candidatos a trasplante renal (TR) se investiga para determinar qué moléculas HLA deben evitarse. El valor de PRA (frecuencia de moléculas HLA prohibidas) nos da idea de la probabilidad de acceso al TR. Al introducir las nuevas técnicas de estudio de Acs anti-HLA, aparece la PRAcalculada (PRAC). Las diferencias entre la PRA y la PRAC derivan del cambio a una técnica más sensible y a la detección no sólo de Acs anti-HLA clase I, sino

también clase II. Hasta ahora, no se conoce cuál es la nueva distribución de pacientes sensibilizados en función de sus valores de PRAc.

#### OBJETIVOS:

Cuantificar la influencia de la introducción de técnicas más sensibles en los valores de PRA de pacientes sensibilizados candidatos a TR.

#### MATERIALES Y MÉTODOS:

Se incluyen pacientes con Screening-Luminex positivo estudiados de 2008-2010 (N=192). En 2008-2009, mediante CDC se calculó la PRA, y en 2010, con antígenos recombinantes revelando con anti-IgG y tecnología Luminex®, obtuvimos la PRAc con la base de datos "Eurotransplant Reference Laboratory" (positivo para MFI>1500). Se seleccionó el suero con máxima PRA/PRAc anual de cada paciente.

#### RESULTADOS:

En los años en los que la determinación se realizaba mediante CDC, la mayoría de los pacientes presentaba valores de PRA <25%; mientras que por encima del 75% se encontraban menos del 20% de los pacientes con Acs. En general, los programas de intercambio para pacientes sensibilizados han fijado este punto de corte (PRA>75%) para considerar a un paciente hiperinmunizado. Ahora, con el uso de la técnica Luminex, la mitad de los pacientes sensibilizados presentan valores de PRAc>75%.

#### CONCLUSIÓN:

La mayoría de los pacientes sensibilizados presentan tasas de PRAc>75% con el uso de técnicas más sensibles. Los programas de intercambio de órganos para pacientes sensibilizados deberían adecuarse a estas circunstancias.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 149**

#### CORRELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE LOS ANTICUERPOS ANTI-HLA ESPECÍFICOS DEL DONANTE Y LA PRUEBA CRUZADA MEDIANTE CITOTOXICIDAD.

*Autor/a/s: Virlán-Bohórquez Rocío, Pedrajas-Serrano María, Maldonado-Galzado Isabel, Abad-Molina Cristina, González-Escribano María Francisca, Núñez-Roldán Antonio*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen del Rocío*

*Localidad: Sevilla*

*Correo electrónico del primer firmante: rocio.virlan.sspa@juntadeandalucia.es*

#### INTRODUCCIÓN:

Desde hace más de 40 años se conoce la relevancia que tiene una prueba cruzada positiva mediante citotoxicidad dependiente de complemento (CDC) con el rechazo hiperagudo después del trasplante renal. La introducción de técnicas más sensibles como Luminex ha proporcionado un método alternativo para la detección de anticuerpos anti-HLA donante específicos (DSA). Es interesante conocer qué niveles de fluorescencia se corresponden con una CDC positiva, especialmente en casos de trasplante cardíaco donde la decisión de la aceptación del órgano para un paciente inmunizado no puede demorarse.

#### OBJETIVOS:

Establecer qué niveles medios de fluorescencia (MFI) de los DSA anti-HLA se corresponden con una CDC positiva.

#### MATERIALES Y MÉTODOS:

Treinta y tres sueros con DSA frente a HLA de clase I (DSA-I) y prueba cruzada virtual positiva y veinte sueros con prueba cruzada virtual positiva debida sólo a DSA frente a HLA de clase II (DSA-II). El criterio para considerar que existían DSA-I y/o DSA-II fue que el suero tuviera un valor de MFI  $\geq 1,500$  contra al menos una de las moléculas HLA de clase I (A, B o C) y/o clase II (DRB1, DQA1 o DQB1) de su donante. Se llevaron a cabo CDC con células T y B empleando sueros con DSA-I y DSA-II respectivamente. Se utilizó el test de Mann-Whitney para comparar la distribución de las medianas.

#### RESULTADOS:

Los valores de las medianas de MFI de los DSA de las CDC positivas y negativas fueron estadísticamente diferentes. En el caso de DSA-I, los valores de las medianas fueron 4.750 (2.000-14.000) y 11.000 (6.000-17.000) para las CDC-T negativas y positivas respectivamente ( $p=0.00005$ ). Con respecto a los DSA-II, los

valores de las medianas fueron 6.750 (2.500-11.000) y 15.000 (9.500-20.000) para las CDC-B negativas y positivas respectivamente ( $p=0.0003$ ). La probabilidad de tener una CDC positiva con DSA  $\geq 9.000$  es de aproximadamente el 85%.

#### CONCLUSIÓN:

Aunque el tamaño de muestra es pequeño, los datos sugieren que valores de MFI de DSA superiores a 9.000 predicen una CDC positiva.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 158**

#### EVALUACIÓN DE BIOMARCADORES INMUNOLÓGICOS EN PACIENTES CON SOSPECHA CLÍNICA DE CONJUNTIVITIS ADENOVÍRICA

*Autor/a/s: Martino Mario, Reinoso Roberto, Martín Carmen, Martín Raquel, Márquez Victoria, Sánchez Esteban, Corell Alfredo.*

*Centro de trabajo: InmunoLAB*

*Localidad: Valladolid*

*Correo electrónico del primer firmante: tecnico.inmunolab.parque.cientifico@uva.es*

#### INTRODUCCIÓN:

La conjuntivitis es una inflamación de la conjuntiva bulbar y/o tarsal causada por la acción de agentes infecciosos, alérgicos, tóxicos o mecánicos. Se trata de la patología que con mayor frecuencia afecta al globo ocular y la que más volumen de consultas origina tanto a nivel de atención primaria como en atención especializada. Las manifestaciones clínicas más frecuentes son escozor ocular, sensación de cuerpo extraño, hiperemia, lagrimeo, fotofobia y secreción, ya sea serosa, fibrosa o purulenta. Pueden ser de etiología alérgica, autoinmune o infecciosa. Dentro de las conjuntivitis infecciosas, las de origen adenovírico son las más frecuentes/habituales. El diagnóstico diferencial de las conjuntivitis es eminentemente clínico, pero en muchas ocasiones se realiza de forma incorrecta, basándose únicamente en pruebas observacionales, por lo que para un mejor diagnóstico, éste debería estar complementado con pruebas de laboratorio, principalmente del tipo inmunológico y/o molecular.

#### OBJETIVOS:

El objetivo general de este proyecto es la búsqueda de biomarcadores inmunológicos para el diagnóstico y seguimiento de las conjuntivitis adenovíricas.

#### MATERIALES Y MÉTODOS:

Se obtuvieron muestras conjuntivales por citología por cepillado en el fornix inferior en 23 pacientes (10 mujeres y 13 hombres).

Los criterios para la inclusión de los pacientes en el estudio fueron: Tener más de 18 años, aceptar el consentimiento informado y tener una exploración objetiva compatible clínica y epidemiológicamente con conjuntivitis adenovírica. Se realizaron diferentes ensayos mediante citometría de flujo para determinar el fenotipo de las células epiteliales y los subtipos de linfocitos intraepiteliales (IELs) presentes, la viabilidad y/o etapa apoptótica y el ciclo celular de las muestras obtenidas. Además se realizó PCR específica de adenovirus para confirmar/rechazar la sospecha clínica de etiología adenoviral.

Los resultados fueron comparados con 63 muestras de donantes sanos.

#### RESULTADOS:

En el fenotipo celular encontramos una población CD45+ significativamente aumentada en los pacientes con conjuntivitis frente a los individuos sanos. Los pacientes con sospecha clínica de conjuntivitis adenovírica presentaron además un mayor porcentaje de células CD3+CD8+ (linfocitos T citotóxicos) los cambios en esta subpoblación también reflejan alteraciones en el cociente CD4/CD8.

En cuanto a la viabilidad se encontró un aumento de células simples en el grupo de conjuntivitis respecto a los sujetos sanos. Por el contrario, las células conjuntivales complejas están disminuidas en los pacientes de conjuntivitis. También se apreciaron cambios en el patrón de ciclo celular: la conjuntivitis reduce el porcentaje de células conjuntivales en reposo (G0/G1).

Solo 6 de las 23 muestras con sospecha clínica de conjuntivitis adenoviral fueron positivas en la PCR específica de adenovirus. No se testaron otros agentes etiológicos (ejemplo: herpes virus).

## CONCLUSIONES:

En base a nuestros resultados, no existen biomarcadores inmunológicos definitivos para el diagnóstico de conjuntivitis por adenovirus.

La infiltración linfocitaria y el cociente CD4/CD8 se perfilan como posibles biomarcadores de conjuntivitis folicular de posible etiología viral.

El diagnóstico molecular mediante PCR, confirma que la sospecha clínica de las conjuntivitis adenovíricas a veces es inexacta.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 171**

### DOS NUEVAS MUTACIONES EN PACIENTES CON ENFERMEDAD GRANULOMATOSA CRÓNICA AUTOSÓMICA RECESIVA POR DEFECTO EN NCF2 (P67-PHOX)

*Autor/a/s: Pascual Campo María del Carmen, Bernal de la Rosa Carmen, Fernández-Carrión Pérez María del Carmen, Varga Cubillo Begoña, Bravo García-Morato María, López Lera Alberto, Ferreira Cerdán Antonio.*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario La Paz*

*Localidad: Madrid*

*Correo electrónico del primer firmante: mc\_pascualc@hotmail.com*

#### INTRODUCCIÓN:

La Enfermedad Granulomatosa Crónica (EGC) es una inmunodeficiencia primaria englobada en la clasificación dentro de los defectos del número de fagocitos, su función o ambos y que es debida a mutaciones de los genes que codifican para la NADPH oxidasa de los fagocitos, que comprenden un gen ligado al cromosoma X (CYBB, gp91phox) y cuatro genes autosómicos recesivos [CYBA(p22phox), NCF1(p47phox), NCF2(p67phox) y NCF4(p40phox)]. Estos defectos ocasionan una ausencia de generación de anión superóxido y por tanto un defecto en la generación de radicales oxidantes y carencia de muerte de organismos intracelulares. Clínicamente se caracteriza por infecciones recurrentes bacterianas y fúngicas que suelen comenzar el primer año de vida y que comprometen la vida del paciente.

Describimos el diagnóstico molecular de dos paciente, un varón(A) y una hembra(B) con infecciones recurrentes desde el primer año de vida sugestivas de EGC, se realiza determinación de generación de anión superóxido en pacientes y padres siendo patológica en los pacientes y normal en los padres por lo que se diagnóstica de EGC.

El objetivo es determinar por una parte qué proteína es la responsable de la enfermedad y por otra realizar el diagnóstico molecular con el fin de dar consejo genético.

#### MATERIALES Y MÉTODOS:

Para el diagnóstico se determinó la actividad respiratoria de los neutrófilos mediante citometría de flujo (oxidación de 123 dihidrorrodamina), espectrofotometría mediante reducción del ferricitocromo C. Posteriormente se cuantificaron las proteínas responsables de la enfermedad mediante citometría de flujo utilizando anticuerpo monoclonal 7D5 frente al complejo gp91phox-p22phox y los policlonales frente a p47 y p67.

Se caracterizaron las mutaciones en el gen NCF2(p67phox) en el cromosoma 1 mediante la amplificación y secuenciación de los 15 exones y sus regiones intrónicas adyacentes.

#### RESULTADOS:

Los neutrófilos de ambos pacientes carecían de generación de anión superóxido mediante citometría de flujo y espectrofotometría, lo que permitió el diagnóstico de EGC. Posteriormente se cuantificaron las proteínas responsables mediante citometría de flujo, presentando cantidades normales del complejo gp91phox-p22phox y p47phox siendo negativa la presencia de p67phox en ambos pacientes. El estudio molecular detectó en ambos pacientes unas mutaciones en el exón 12 del gen NCF2(p67phox) en homocigosis:

Paciente A: g.28090 C>T, c.1120 C>T, p.Gln374X.

Paciente B: g.28086 C>A, c.1116 C>A, p.Tyr372X

#### CONCLUSIONES:

Se identifican dos nuevas mutaciones no descritas previamente en el gen NCF2 causantes de EGC autosómica recesiva, uno de los genes con frecuencia baja (5% de los casos), lo que ha permitido dar consejo genético a los padres, todos ellos portadores. Estas mutaciones tienen acceso en la base de datos del ESID con la nominación N0120 (paciente A) y N0117 (paciente B).

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 175**

### DETERMINACIÓN DE LA FUNCIONALIDAD DE LOS RECEPTORES TIPO TOLL MEDIANTE CULTIVO CELULAR EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA.

*Autor/a/s: Estébanez Gallo, Ángel; Ramos Melendro, David; Santa Cruz Llata, Carolina; Iruzubieta Coz, Paula; Arias Loste, María Teresa; López Hoyos, Marcos; Crespo García, Javier.*

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

*Localidad: Santander*

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

#### INTRODUCCIÓN:

La obesidad es una enfermedad crónica de etiología multifactorial asociada al desarrollo de enfermedades crónicas, como la enfermedad hepática por depósito de grasa, cuyo denominador común es la resistencia a la insulina.

La obesidad se relaciona con un estado inflamatorio crónico de bajo grado, caracterizado principalmente por una producción alterada de citocinas y la activación de diferentes vías de señalización de la inmunidad innata. Es conocido el papel que juega la activación de receptores tipo Toll en el desarrollo de dicho estado así como en la resistencia a la insulina.

Nuestra hipótesis de trabajo es que los receptores de tipo Toll pueden jugar un papel clave en el desarrollo de la enfermedad hepática por depósito de grasa.

#### OBJETIVO:

Determinar mediante cultivo celular y determinación por citometría de flujo la funcionalidad de TLRs en pacientes con obesidad mórbida antes de ser sometidos a cirugía bariátrica.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se han incluido de forma prospectiva 40 pacientes con obesidad mórbida, de los que se han recogido de forma sistemática diferentes variables clínicas y analíticas. Antes de la intervención se recoge una muestra de sangre anticoagulada con heparina de sodio.

Para determinar la funcionalidad de los receptores TLR (TLR1-TLR9) se realiza un cultivo de monocitos con los siguientes agonistas específicos para cada TLR: TLR1 – 2PamCSK4, TLR2 – HKLM, TLR3 – Poly (I:C), TLR4 – E.coli K12 LPS, TLR5 – Flagellin, TLR6 – 2FLS1, TLR7 – Imiquimod, TLR8 – ssRNA, TLR9. Un décimo tubo sin agonista servirá como control no estimulado. A cada tubo se le añade antes del cultivo una alícuota de sangre, el correspondiente agonista y medio RPMI. La incubación se realiza a 37°C –5% CO<sub>2</sub> durante 18 horas.

Tras la misma, se retira parte del sobrenadante sin tocar la fracción celular y se marcan las células con AntiCD14 y AntiIL1B, AntiTNF o AntiIL6 respectivamente.

La determinación de la proteína de unión a lipopolisacáridos (LBP) se realiza mediante ELISA.

#### RESULTADOS:

El perfil de funcionalidad de TLRs difiere entre sujetos sanos y pacientes, siendo la producción de IL1, IL6 y TNF en los monocitos de los sujetos control.

La concentración sanguínea de la proteína transportadora de LPS (LBP) es significativamente mayor en obesos que en controles.

Estratificando los paciente según la histología obtenida en un estudio paralelo, encontramos que tanto la LBP como la producción de citoquinas es mayor en los sujetos con esteatohepatitis, comparado con aquellos con esteatosis simple.

El perfil de funcionalidad cambia a los seis meses de la cirugía con un aumento significativo de la secreción dependiente del estímulo con LPS de IL1, IL6 y TNF por parte de los monocitos periféricos.

No obstante, los niveles de LBP no varían a lo largo del tiempo de estudio.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 182**

### EXPRESIÓN DE LOS RECEPTORES TIPO TOLL MEDIANTE CITOMETRÍA DE FLUJO EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA Y SU RELACIÓN CON EL DESARROLLO DE ENFERMEDAD HEPÁTICA POR DEPÓSITO DE GRASA.

*Autor/a/s: Estébanez Gallo, Ángel; Ramos Melendro, David; Santa Cruz Llata, Carolina; Pumarejo Gómez, Enriqueta; Iruzubieta Coz, Paula; Arias Loste, María Teresa; Crespo García, Javier; López Hoyos, Marcos.*

## INTRODUCCIÓN:

La obesidad es una enfermedad crónica de etiología multifactorial asociada al desarrollo de enfermedades crónicas, como la enfermedad hepática por depósito de grasa, cuyo denominador común es la resistencia a la insulina.

La obesidad se relaciona con un estado inflamatorio crónico de bajo grado, caracterizado principalmente por una producción alterada de citocinas y la activación de diferentes vías de señalización de la inmunidad innata. Es conocido el papel que juega la activación de receptores tipo Toll en el desarrollo de dicho estado así como en la resistencia a la insulina.

Nuestra hipótesis de trabajo es que los receptores de tipo Toll pueden jugar un papel clave en el desarrollo de la enfermedad hepática por depósito de grasa.

## OBJETIVO:

Determinar mediante citometría de flujo la expresión de TLRs en pacientes con obesidad mórbida antes de ser sometidos a cirugía bariátrica y asociar estos resultados con los hallazgos de la biopsia hepática obtenida durante la intervención.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se han incluido de forma prospectiva 40 pacientes con obesidad mórbida, de los que se han recogido de forma sistemática diferentes variables clínicas y analíticas. Antes de la intervención se recoge una muestra de sangre para la determinación de TLRs (TLR1-TLR9) en linfocitos B, T y monocitos mediante citometría. Estas determinaciones se han repetido a los seis meses en 30 de estos pacientes.

Para los receptores TLR1, TLR2 y TLR4 se realiza una marcación de superficie según el protocolo establecido; los receptores TLR3, TLR6, TLR7 y TLR8 requiere de una marcación indirecta; mientras que para los receptores TLR5 y TLR9 se realiza una marcación intracitoplasmática.

Durante la cirugía se han realizado biopsias hepáticas en 34 pacientes para confirmar la presencia de enfermedad hepática por depósito de grasa. Las muestras fueron procesadas según el protocolo habitual con fijación en formol, inclusión en parafina y tinción con Hematoxilina-Eosina. Siguiendo la clasificación de Brunt, al examen microscópico se ha valorado la presencia de esteatosis, balonización celular, infiltrado inflamatorio y presencia de fibrosis hepática.

## RESULTADOS:

El perfil de expresión de TLRs difiere entre sujetos sanos y pacientes con obesidad mórbida, con una expresión de TLR4 significativamente mayor en sujetos sanos.

## OBJETIVO:

Demostrar que con nuestros ensayos existe una relación directa entre los niveles de los fármacos ANTI-TNF, infliximab (Ifx), adalimumab (Ada), etanercept (Etn), y la respuesta clínica en la enfermedad de artritis reumatoide.

## MATERIALES Y MÉTODOS:

Se estudiaron un total de 129 pacientes con AR provenientes del Servicio de Reumatología. De ellos 55 pacientes fueron tratados con Infliximab (Ifx) a 3mg/kg cada 8 semanas, 35 con Adalimumab (Ada) con 40 mg/2semanas y 39 con Etanercept (Etn) con 50mg/semana. Se recogieron los sueros y los datos clínicos del primer año de tratamiento. La actividad clínica se evaluó por el DAS28 y la respuesta se interpretó como buena, moderada y no respuesta según los criterios EULAR. Los niveles séricos de medicamento se midieron por ELISA de captura, cargando las placas con anticuerpos monoclonales (Sanquin) que capturan el TNF recombinante (Preprotech). La presencia de fármaco en el suero se reveló con anticuerpos monoclonales anti-idiotipo de los fármacos marcados con biotina (Progenika) y tras la incubación con estreptavidina-peroxidasa se revelaron con tetrametilbencidina como sustrato. La densidad óptica se leyó a 450nm. En cada ensayo se construyó una curva patrón con cantidades conocidas de medicamento. Como grupo control para establecer los umbrales de positividad se ensayaron 250 sueros (150 de donantes sanos y 100 de pacientes con AR sin tratamiento).

## RESULTADOS:

Cuarenta y seis pacientes tuvieron buena respuesta clínica EULAR (17 de los tratados con Ifx, 10 con Ada y 19 con Etn), 52 tuvieron respuesta moderada (25 con Ifx, 15 con Ada y 12 con Etn) y 31 pacientes fueron no respondedores a la terapia con anti-TNF (13 con Ifx, 10 con Ada, 8 con Etn). Los pacientes que tuvieron respuesta EULAR buena y moderada se consideraron como grupo respondedor (R) y se encontraron diferencias significativas respecto a los pacientes no respondedores (NR) en los niveles de Infliximab (media  $\pm$  SD)  $1658 \pm 2111$  ng/ml en R vs  $598 \pm 1298$  ng/ml en NR,  $p=0.0283$ ; en Adalimumab  $5725 \pm 4709$  ng/ml en R vs  $1407 \pm 1596$  ng/ml en NR,  $p=0.0045$ ; y en los niveles para Etanercept  $2237 \pm 1385$  ng/ml para los R vs  $645.3 \pm 582.8$  ng/ml en los NR,  $p=0.0011$ . Los niveles séricos de Infliximab fueron los únicos que tuvieron potencia suficiente para discriminar entre una respuesta EULAR buena (B)  $2464 \pm 2465$  ng/ml y una respuesta moderada (M)  $1109 \pm 1671$  ng/ml,  $p=0.019$ .

## CONCLUSIÓN:

Comprobamos que los niveles circulantes de fármaco en suero se asocian con la respuesta clínica en los pacientes con artritis reumatoide, tras un año de tratamiento. Estas medidas son un parámetro muy útil de ayuda al clínico en la evaluación de la respuesta de los pacientes a la terapia.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 199

### NIVELES SÉRICOS CIRCULANTES DE FÁRMACOS INHIBIDORES DE TNF SE ASOCIAN CON LA RESPUESTA CLÍNICA DE LOS PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE

Autor/a/s: DIEGO VALVERDE CRISTINA ; MORAL HERNANDO M<sup>a</sup> DEL ROSARIO; ARRIBAS ARRIBAS FLORENCIA ; JURADO CAMINO TERESA ; PLASENCIA RODRIGUEZ CHAMAIDA ; Balsa Criado Alejandro ; Pascual Salcedo DORA

Centro de trabajo: HOSPITAL LA PAZ

Localidad: MADRID

Correo electrónico del primer firmante: cristinadiego83@gmail.com

## INTRODUCCIÓN:

En los últimos 10 años muchos pacientes con Artritis Reumatoide (AR) están siendo tratados con fármacos bloqueantes del TNF. Diferentes publicaciones han sugerido que existe una relación entre la respuesta clínica de los pacientes y los niveles, detectados en suero, de los mencionados fármacos. En la Unidad de Inmunología del Hospital La Paz, se miden dentro de las determinaciones de la rutina los niveles de tres fármacos anti-TNF: Infliximab, Adalimumab y Etanercept. Estas medidas son utilizadas por los clínicos como un indicador de la respuesta a la terapia, que es tenido en cuenta dentro de las decisiones terapéuticas, como por ejemplo la disminución de la dosis administrada de fármaco en los pacientes con buena respuesta.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 216

### COMPARACION DEL RENDIMIENTO DE LA PRUEBA CRUZADA PRE-TRASPLANTE RENAL ENTRE LAS TÉCNICAS DE CITOMETRÍA DE FLUJO Y LUMINEX

Autor/a/s: Rodríguez Veira, Carmen María; Canedo Gómez, M<sup>a</sup> de los Angeles; González Morales, M<sup>o</sup> Isabel; Domenech Rosado, Carolina; Cid Fernández, Javier

Centro de trabajo: Complejo Hospitalario Univ. A Coruña

Localidad: A Coruña

Correo electrónico del primer firmante: carmelarodriguezveira@sergas.es

## INTRODUCCIÓN:

El éxito del trasplante renal depende en gran medida de la capacidad para determinar la existencia en el receptor de anticuerpos preformados contra los antígenos HLA (Human Leukocyte Antigen) del donante, mediante el estudio denominado Prueba Cruzada. Actualmente existen dos grupos de técnicas para la prueba cruzada. Todas ellas utilizan una muestra de suero del receptor enfrentado 1) a células del donante (técnicas basadas en células: linfocitotoxicidad - LCT - y citometría de flujo - CF - ) o 2) a antígenos HLA purificados (técnicas de fase sólida, sea ésta un pocillo de una placa de ELISA o, más frecuentemente en la actualidad, microesferas de poliestireno, como en la tecnología Luminex). El orden de sensibilidad de las técnicas, de menor a mayor, es: linfocitotoxicidad < CF < Luminex.

En los casos de trasplante renal con donante vivo, por la cronología de la donación es posible realizar estudios detallados de compatibilidad donante-receptor, inclu-

yendo la prueba cruzada mediante LCT y CF, y el estudio de anticuerpos anti-HLA mediante tecnología Luminex. Si el receptor presenta en esta última técnica anticuerpos contra antígenos HLA existentes en el donante, se habla de anticuerpos DSA (Donor-Specific Antibody: anticuerpos específicos del donante), importantes para el éxito del trasplante.

#### OBJETIVO:

Comparar el rendimiento diagnóstico de las técnicas de prueba cruzada mediante CF y Luminex en un grupo de parejas de trasplante renal con donante vivo.

#### PACIENTES Y MÉTODOS:

Se han escogido 52 parejas donante-receptor, correspondientes al período 09/2012-02/2014, estudiadas en nuestro laboratorio con anterioridad al trasplante renal. Se utilizaron para la prueba cruzada las técnicas de LCT, CF y Luminex (escrutinio de anticuerpos anti-HLA Clase I y II; en caso de positividad, se usaron las técnicas Luminex de identificación de anticuerpos, Single Antigen clase I y/o II). En el estudio se compara el rendimiento de CF y Luminex.

Resultados: Los resultados se resumen en la tabla adjunta.

		Luminex	
		NEG	POS
CF	NEG	40	3
	POS	1	8

Ambas técnicas presentaron una concordancia alta (92,3%). De los resultados discordantes, la prueba con CF Pos/Luminex Neg se consideró un falso positivo, que no supone contraindicación del trasplante. En los restantes tres casos discordantes (CF Neg/Luminex Pos), los resultados de la prueba Luminex fueron:

Suero 76AD: presencia de anti-DQB1\*03:03 con MFI (intensidad) de 4.000 unidades arbitrarias.

Suero 6AF: anticuerpo anti-DRB3 (DR52) con MFI = 8.500

Suero B18: anticuerpo anti-B18 con MFI = 5400

En estos tres casos, por su potencial efecto adverso sobre el injerto, los pacientes fueron sometidos a desensibilización (plasmaféresis). Las razones de la negatividad de la CF pueden ser: 1) la baja expresión, de los alelos (caso de DQB1\*03:03 y DRB3, limitados además a los linfocitos B), y el mayor umbral de detectabilidad de la CF (MFI < 6000 pueden no ser detectables mediante CF)

#### CONCLUSIONES:

En la prueba cruzada para trasplante renal, es recomendable utilizar una técnica de fase sólida (Luminex) para detectar anticuerpos en baja concentración y/o dirigidos contra alelos de baja expresión.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 221**

#### IMPORTANCIA DE LAS PRUEBAS INMUNOLÓGICAS EN EL DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN DE LOS SÍNDROMES POLIGLANDULARES AUTOINMUNES

*Autor/a/s: Elena Marco Castro, Carmen Salcedo Moreno, M<sup>a</sup> Asunción Julián Viñals, Francisca Yanez Pereira, M<sup>a</sup> Jesús Marcos Gutierrez, Montserrat Lozano Doncel, Rita Alvarez Doorno*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario La Paz*

*Localidad: Madrid*

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

#### INTRODUCCIÓN:

Los síndromes poliglandulares autoinmunes (SPA) son un grupo heterogéneo de enfermedades raras caracterizadas por actividad autoinmune contra más de una glándula endocrina, aunque también pueden estar afectados otros órganos no endocrinos, con presencia o ausencia de autoanticuerpos circulantes órgano-específicos.

Actualmente, la clasificación más aceptada de los SPA recoge tres tipos mayoritarios dependiendo de la edad de presentación, manifestaciones clínicas y tipo de herencia. Siendo esta última la seleccionada para nuestro estudio:

Síndromes poliglandulares autoinmunes tipo 1: El fenotipo clínico clásico es candidiasis mucocutánea, hipoparatiroidismo y enfermedad de Addison (al menos 2 de ellas). Este síndrome se conoce como APECED (autoimmune polyendocrinopathy, candidiasis and ectodermic dystrophy). Las mutaciones en el gen AIRE,

localizado en el cromosoma 21, se ha descrito que están relacionadas con el SPA tipo 1. Suele presentarse en la infancia.

Síndromes poliglandulares autoinmunes tipo 2: El fenotipo clínico clásico comprende insuficiencia adrenal, diabetes tipo 1 y/o enfermedad tiroidea. Se suele presentar en adultos y se asocia con HLA-DR3 y/o HLA-DR4.

Síndrome de disfunción inmunitaria, poliendocrinopatía y enteropatía ligada al cromosoma X (IPEX): Se debe a una mutación en el gen FOXP3, localizado en el cromosoma X. Es muy raro y suele aparecer en fases tempranas de la vida con diabetes neonatal, enfermedad tiroidea, síntomas y signos de alergia, eccema, eosinofilia, valores elevados de inmunoglobulina E, diarrea secretora, retraso de crecimiento e inmunodeficiencia. El pronóstico es malo con mortalidad precoz: antes de los 3 años en la mayoría de los casos.

#### OBJETIVO:

Estudiar la presencia o ausencia de anticuerpos específicos en 76 pacientes con posible SPA así como el estudio genético con el fin de clasificarlos.

#### MATERIALES Y MÉTODOS:

Hemos incluido 76 pacientes con sospecha de SPA. Se estudiaron los autoanticuerpos órgano-específicos: Ac. Anti-células de los islotes pancreáticos (ICA), Ac. Anti-citoplasma adrenal (ACA), Ac. Antihipófisis, Ac. Anti-paratiroides, Ac. anti-células productoras de esteroides (anti-ovario y anti-testículo) y Ac. Anti-enterocito por la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) utilizando portas de tejidos de mono sobre los que se incuban los sueros de los pacientes revelándose posteriormente con un antisuero específico marcado con fluorescencia. Para detectar los Ac. Anti-LKM-1 y Ac. Anti células parietales se utilizan portas con triple tejido de rata (Hígado, estómago y riñón). EUROINMUN AG Luebeck (Germany).

La presencia de anticuerpos antitiroideos (Ac. Antitiroglobulina y antiperoxidasa tiroidea) se determinó por el método automático EliA InmunoCAP 250. Phadia AB/ ThermoFisher Scientific.

Se realizó el estudio genético de los pacientes mediante la extracción de DNA a partir de leucocitos sanguíneos: Por técnicas de biología molecular se estudian los genes AIRE y FOXP3.

El gen AIRE mediante la amplificación y secuenciación de los 14 exones y sus regiones intrónicas adyacentes.

El gen FOXP3 mediante la amplificación y secuenciación de los 11 exones y el promotor.

#### RESULTADOS:

Todos los pacientes presentan autoanticuerpos en algún momento de su estudio. Solamente se pueden detectar los autoanticuerpos órgano-específicos en el momento del inicio de la enfermedad ya que cuando están en tratamiento pueden no detectarse. La positividad de los autoanticuerpos fue del (13.16%) Anti-ICA, (25%) Anti-ACA, (35.5%) Anti-Hipófisis, (27.63%) Anti-paratiroides, (3.94%) Anti-células productoras de esteroides, (36.84%) Anti-tiroideos, (10.52%) Anti-enterocitos, (14.47%) Anti-células parietales y (3.94%) Anti-LKM-1.

En los pacientes estudiados se ha detectado positividad de uno a cuatro anticuerpos de los estudiados. 2 pacientes con 4 anticuerpos, 11 pacientes con 3 anticuerpos, 27 pacientes con 2 y 36 con un anticuerpo.

Al realizar el estudio molecular se encontraron cuatro pacientes con mutaciones en el gen AIRE y dos pacientes con mutaciones en el gen FOXP3.

#### CONCLUSIONES:

La respuesta inmune humoral en los pacientes con SPA es compleja y variable. Está enmascarada por el tratamiento inmunosupresor. Por eso es tan importante estudiar a los pacientes en los estadios iniciales con el fin de detectar los anticuerpos órgano-específicos.

El porcentaje de positividad de anticuerpos anti-hipófisis y antiparatiroides es más elevado que lo descrito en la bibliografía, posiblemente porque son técnicas que no se realizan habitualmente en los laboratorios.

Se propone que el mejor perfil inmune para el estudio de los SPA tipo 1 es: Estudio de anti-paratiroides, anti-ACA, anticuerpos anti células productoras de esteroides (anti-ovario y anti-testículo) y antitiroideos.

Para el estudio de los SPA tipo 2: Determinación de anti-ICA, anti-ACA, antitiroideos, anti-hipófisis, anticuerpos anti células productoras de esteroides (anti-ovario y anti-testículo).

Finalmente para el perfil de IPEX: Son importantes las determinaciones de anti-enterocitos, anti-ICA y antitiroideos.

Dependiendo de la clínica y del perfil de autoanticuerpos encontrados se debe realizar el diagnóstico molecular con el fin de clasificar el SPA.

## UTILIDAD DE LA CUANTIFICACIÓN DE CADENAS LIGERAS LIBRES EN EL DIAGNOSTICO DE MIELOMA MULTIPLE DE CADENAS LIGERAS

Autor/a/s: Vega Vargas Concepción, Torres Carrasco Elena, Ocaña Pérez Esther, Lopez Armijo E.

Centro de trabajo: Complejo Hospitalario de Jaén

Localidad: Jaén

Correo electrónico del primer firmante: mcvv0104@hotmail.com

### INTRODUCCIÓN:

Las gammopatías monoclonales (GM) engloban un amplio espectro de diferentes entidades en las cuales el pilar del diagnóstico y de su seguimiento es la identificación y caracterización de la proteína monoclonal, producida por un clon anormal de células plasmáticas. La incorporación de la cuantificación de cadenas ligeras libres en suero en los protocolos de estudio de GM ha permitido aumentar la sensibilidad, llegando a detectar hasta el 95% de las GM. En este estudio presentamos un caso clínico de mieloma múltiple de cadenas ligeras que debuta con anemia e insuficiencia renal en el que la alteración del cociente cadenas ligeras kappa/lambda libre en suero fue el único parámetro que se mostró alterado en el protocolo de estudio de gammopatías monoclonales.

### OBJETIVO:

Valorar la utilidad de la cuantificación de cadenas ligeras libres en suero en el diagnóstico de GM.

### MATERIALES Y MÉTODOS:

En el abordaje clínico de esta paciente, se realizó estudio bioquímico completo y protocolo de estudio de GM que incluyó proteinograma en gel de agarosa, inmunofijación en suero y cuantificación de cadenas ligeras libres (Binding Site, SL) por nefelometría (BNII, Siemens). Se realizó estudio inmunohistoquímico en biopsia renal.

### RESULTADOS:

Mujer que acude al Servicio de Urgencias por astenia y malestar general. En el estudio inicial muestra anemia severa (Hemoglobina 6.45 g/dl, Hematocrito 19.3%) e insuficiencia renal con niveles de creatinina de 4,3 mg/dl, por lo que es ingresada para ser valorada por el Servicio de Nefrología. La paciente no presentaba antecedentes personales salvo hipertensión arterial detectada hace dos meses. Al ingreso, se confirma presencia de insuficiencia renal con hiperpotasemia leve e hipercalcemia, sedimento con microhematuria y cifras de tensión arterial elevadas (160/100 mmHg). Se inicia estudio de insuficiencia renal y dada la presencia de anemia severa se plantea la posibilidad de mieloma múltiple como patología de base, descartándose enfermedad autoinmune sistémica y otras causas de insuficiencia renal. En el protocolo de estudio de GM no se encontró presencia de componente monoclonal ni en proteinograma ni en inmunofijación. Sin embargo, se encontró elevación significativa del cociente cadenas ligeras kappa/lambda libre en suero sugerente de GM: cadenas ligeras libres Kappa 2100 mg/l (3,30-19,40), cadenas ligeras libres Lambda 27 mg/l (5,71-26,30), ratio kappa/lambda 77,70 (0,26-1,65). La cuantificación de proteínas de Bence Jones Kappa en orina 24 horas fue de 42 mg/l (0-5mg/l). Se realizó interconsulta al Servicio de Hematología para realización de aspirado de médula ósea con resultado no concluyente. Para confirmar el diagnóstico se realizó biopsia renal y estudio inmunohistoquímico que reveló la presencia de depósitos de cadenas ligeras Kappa, compatible con enfermedad por depósito de cadenas ligeras.

### CONCLUSIONES:

La cuantificación de cadenas ligeras libres en suero ha sido fundamental para establecer el diagnóstico de mieloma múltiple de cadenas ligeras, ya que fue el único parámetro analítico que mostró la presencia de componente monoclonal en suero. Concluimos que la cuantificación de cadenas ligeras libres en suero deben estar incluida en los protocolos de estudio de GM.

## INDICE DE IGG Y BANDAS OLIGOCLONALES EN LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO EN EL ESTUDIO DE ESCLEROSIS MULTIPLE

Autor/a/s: Merino Rivilla P, Ocaña Pérez E, Peña Casas Ana M, Buitrago Melero MI, Ocaña Ureña

Centro de trabajo: (Complejo Hospitalario de Jaén

Localidad: (JAEN

Correo electrónico del primer firmante: pilarmerino11@gmail.com

### INTRODUCCIÓN:

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad desmielinizante del Sistema Nervioso Central en la que hay momentos en los que aparecen los síntomas neurológicos, seguidos de remisiones y nuevas recaídas. Se caracteriza por la existencia de lesiones desmielinizantes en la sustancia blanca cerebral y medular, diseminadas en el tiempo y en el espacio. Los síntomas clínicos pueden ser leves o graves y de duración variable, dependiendo del área en la que ha tenido lugar la desmielinización. El diagnóstico de la EM está basado normalmente en criterios clínicos establecidos, pruebas de imagen y pruebas de laboratorio. Aunque no existe ninguna prueba de laboratorio específica, la detección de ciertos cambios en el LCR como la síntesis intratecal de IgG, es de gran utilidad en el diagnóstico. Los indicadores más ampliamente utilizados para medir esta síntesis intratecal son el aumento significativo en el cociente de la IgG del LCR respecto a la albumina, mediante el índice de IgG (estimación indirecta), en el que un valor por encima de 0,7 implica la existencia de síntesis intratecal de IgG y la presencia de bandas oligoclonales en la zona gamma de la electroforesis del LCR (estimación directa), siendo el método de elección el isoelectroenfoque en gel de agarosa, técnica de gran complejidad y que requiere gran experiencia tanto para la realización técnica como para la interpretación de la misma y que actualmente por su complejidad está incluida en la cartera de servicios de pocos laboratorios.

### OBJETIVOS:

Analizar la síntesis intratecal de IgG en pacientes con sospecha clínica de esclerosis múltiple mediante el cálculo del índice de IgG y la presencia de bandas oligoclonales en LCR mediante isoelectroenfoque.

### MATERIALES Y MÉTODOS:

Se analizaron 57 muestras de parejas de LCR y suero de pacientes con sospecha clínica de esclerosis múltiple remitidas al laboratorio de Inmunología durante los años 2012-2013. Se realizó la cuantificación de IgG y albúmina en LCR y suero mediante nefelometría (BNII, Siemens) y se calculó el índice de IgG ( $IgG_{LCR} / IgG_{suero} / Albumina_{LCR} / Albumina_{suero}$ ). El análisis de bandas oligoclonales en LCR y suero se realizó mediante isoelectroenfoque (Hydrigel CSF Isofocusing, Sebia).

### RESULTADOS:

Las muestras analizadas pertenecían a 23 hombres y 34 mujeres. En el análisis del índice de IgG, 38 pacientes mostraron un valor por debajo de 0,7 y en 19 casos valores superiores al mismo 0,7. El análisis de bandas oligoclonales mostró presencia de bandas en 22 casos, mientras que en 35 casos no se observó la presencia de bandas oligoclonales. Se obtuvo concordancia entre los resultados de índice de IgG y estudio electroforético de bandas oligoclonales en 48 casos (84,2%), en 6 casos se obtuvo presencia de bandas oligoclonales pero con índice de IgG por debajo de 0,7 (valor medio 0,52) y en 3 casos no se detectó presencia de bandas oligoclonales sin embargo el índice de IgG estuvo por encima del punto de referencia (valor medio 0,78).

### CONCLUSIONES:

En nuestro estudio hemos obtenido una excelente concordancia entre la estimación indirecta de síntesis intratecal de IgG mediante el índice de IgG y la presencia de bandas oligoclonales en LCR mediante isoelectroenfoque. Concluimos que el índice de IgG sigue siendo una buena herramienta de cribado, aunque el isoelectroenfoque forma parte de las recomendaciones propuestas por el consenso internacional de diagnóstico de esclerosis múltiple.

## ESTUDIO COMPARATIVO DE LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI TRANSGLUTAMINASA IGA MEDIANTE ENZIMOINMUNOANÁLISIS Y QUIMIOLUMINISCENCIA

Autor/a/s: Ocaña Ureña C, Buitrago Melero MI, Aceituno Azaustre MI, Merino Rivilla P

Centro de trabajo: Complejo Hospitalario de Jaén

Localidad: Jaén

Correo electrónico del primer firmante: ocañaurenamc@hotmail.com

## INTRODUCCIÓN:

La enfermedad celíaca (EC) es un desorden sistémico con base inmunológica causado por la ingesta de gluten y otras proteínas similares que afecta a personas con predisposición genética. Se caracteriza por la presencia de una variedad de manifestaciones clínicas dependientes de gluten, anticuerpos específicos de EC, haplotipos HLA-DQ2 y/o HLA-DQ8 y enteropatía. Los anticuerpos específicos son los autoanticuerpos anti-transglutaminasa tisular (A-tTG), los anticuerpos anti-endomisio (A-EMA) y los anticuerpos anti-péptidos deamidados de gliadina (A-DGP). Las nuevas recomendaciones de la Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (ESPGHAN) recomiendan, que ante la presencia de síntomas muy sugestivos con serología francamente positiva (A-tTG 10 veces el valor límite de la normalidad, verificados por A-EMA, realizados en otra muestra diferente) y susceptibilidad genética demostrada (HLA DQ2 y/o DQ8 positivos) se puede retirar el gluten de la dieta sin necesidad de realizar una biopsia intestinal. De acuerdo con estas recomendaciones la ausencia de anticuerpos A-tTG implica un diagnóstico poco probable de enfermedad celíaca, por lo tanto la determinación de anti-TGt IgA y la selección del método de análisis se convierte en una decisión muy importante para los profesionales del laboratorio por la repercusión clínica que puede tener en el diagnóstico y en la realización de pruebas diagnósticas invasivas en pacientes con sospecha de EC.

## OBJETIVOS:

Comparar la determinación de anti-TGt IgA por el método ELISA, DSX (Dyner Biosciences), y por quimioluminiscencia, Zenit (Menarini Diagnostics).

## MATERIALES Y MÉTODOS:

Se analizaron 74 sueros de pacientes remitidos al laboratorio de inmunología por sospecha de enfermedad celíaca. Las muestras fueron procesadas, paralelamente, en dos autoanalizadores con diferente metodología: DSX (Dyner Biosciences) mediante ELISA y Zenit RA (Menarini Diagnostics) por quimioluminiscencia. El estudio estadístico de los datos se realizó mediante un análisis de regresión de Passing-Bablok y un test de correlación con el coeficiente de Spearman.

## RESULTADOS:

Al aplicar la prueba de Passing-Bablok se obtuvo la siguiente ecuación de regresión: anti TGt DSX =  $-0,69 + 0,55$  TGt Zenit RA. Con un IC al 95% de  $-0,99$  a  $-0,55$  para la ordenada en el origen y de  $0,50$  a  $0,68$  para la pendiente. El análisis de resultados mostró un coeficiente de correlación de Spearman entre ambos autoanalizadores de  $0,939$ , significativo al nivel  $0,01$ .

## CONCLUSIONES:

A la vista de los resultados, se concluye: 1. Las dos técnicas no son intercambiables debido a la presencia de un error sistemático, ya que la ordenada en el origen es distinta de cero, y un error proporcional al ser la pendiente distinta de 1. Esto hace que tengamos que aplicar un factor de corrección para que los resultados de ambas pruebas sean comparables. 2. Existe una buena correlación entre ambos métodos. 3. En los dos analizadores se obtuvieron el mismo número de pacientes con valores de anti-TGt IgA > 10 veces el punto de corte, en los que se evitaría la realización de biopsia intestinal.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 254**

### TRASPLANTE RENAL CON PRUEBA CRUZADA POSITIVA MEDIANTE CITOTOXICIDAD: PROTOCOLO DE ESTUDIO DE ANTICUERPOS ANTI-HLA TIPO IGG E IGM.

*Autor/a/s: Virlán-Bohórquez Rocío, Romero-García María Luisa, Abad-Molina Cristina, González-Escribano María Francisca, Núñez-Roldán Antonio*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen del Rocío*

*Localidad: Sevilla*

*Correo electrónico del primer firmante: rocio.virlan.sspa@juntadeandalucia.es*

## RESUMEN:

Introducción. La prueba cruzada por citotoxicidad (XM-CDC) detecta anticuerpos (Acs) de tipo IgG1/IgG3 o IgM frente a moléculas presentes en la superficie de los linfocitos T y/o B que se utilizan como dianas. Las nuevas técnicas de estudio de Acs son más específicas, detectan Acs generalmente IgG sólo anti-HLA. Antes del trasplante renal (TR), se realiza XM-CDC prospectivo pudiendo darse el caso de pacientes con XM-CDC positivo aunque el estudio de Acs IgG anti-HLA sea

negativo o no haya Acs específicos frente al donante (DSA). Para poder trasplantar a estos pacientes con XM-CDC positivo es necesario descartar la presencia de DSA anti-HLA

## OBJETIVOS:

El objetivo de nuestro trabajo fue descartar la presencia de Acs IgM anti-HLA en candidatos a TR con XM-CDC positivo sin Acs IgG DSA.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Seis pacientes en lista de espera para TR (3 de cadáver y 3 de vivo), todos ellos con XM-CDC T y/o B positivo. En el estudio previo, 4 pacientes no tenían Acs IgG anti-HLA y 2 de ellos tenían Acs IgG anti-HLA, pero en ningún caso eran DSA. La presencia de Acs fijadores de complemento se realizó con antígenos recombinantes y revelado con anti-C1q mediante tecnología Luminex®.

Resultados. Tras el estudio con C1q, los sueros sin Acs IgG anti-HLA carecían también de Acs IgM anti-HLA; y los sueros que tenían Acs IgG anti-HLA no ampliaban su patrón de especificidades. Se acordó trasplantar a estos pacientes en ausencia de Acs IgG DSA anti-HLA aunque el XM-CDC fuera positivo y siempre que se negativizara el XM-CDC al tratar el suero con DTT, ya que en ninguno de los sueros estudiados se detectaron Acs IgM anti-HLA. En el seguimiento post-TR, no se ha objetivado ningún episodio de rechazo humoral agudo u otra complicación y todos los injertos renales siguen funcionando (creatinina media  $1,3$  mg/dl (sd  $0,21$ ) y FG-MDRD  $460,96$  ml/min) con una mediana de seguimiento de 11 meses.

## CONCLUSIÓN:

El protocolo seguido en este estudio facilita el acceso al trasplante a los pacientes con XM-CDC positivo sin DSA anti-HLA.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 263**

### UTILIDAD CLÍNICA DE LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-SP100

*Autor/a/s: SÁNCHEZ SALAZAR, MARÍA ISABEL, DEL ÁRBOL DEL ÁRBOL, OLGA; CUELLAS GUTIÉRREZ, CONSTANTINA.*

*Centro de trabajo: COMPLEJO ASISTENCIAL UNIVERSITARIO DE LEÓN*

*Localidad: LEÓN*

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

## INTRODUCCIÓN:

Las hepatopatías autoinmunes (HAI) son un grupo de enfermedades que engloban a las hepatitis autoinmunes, la cirrosis biliar primaria y los síndromes de superposición (overlap). Clásicamente se ha descrito la presencia de autoanticuerpos asociados a estas patologías como los antinucleares (ANA), anti-Ro, anti-SLA (antígeno soluble hepático), anti-LC1 (citósólico hepático) y anti-LKM (microsomal hepato-renal), principalmente en hepatitis autoinmune, y los anti-mitocondriales (AMA) en la cirrosis biliar primaria. En los últimos años se han identificado nuevas especificidades antigénicas frente a las cuales estos pacientes pueden presentar autoanticuerpos, entre ellos destacan los anti-sp100 y anti-gp210, asociados principalmente a la cirrosis biliar primaria, y que pueden presentarse como un patrón de puntos nucleares en la inmunofluorescencia de ANA. Sin embargo su significado clínico y su asociación con otras patologías inmunológicas (hepáticas o no) no es bien conocido.

## OBJETIVOS:

Analizar de forma descriptiva el perfil clínico y serológico (función hepática y autoinmunidad) de los pacientes con anti-sp100, con la finalidad de establecer su significado clínico, así como la actitud clínico-diagnóstica-terapéutica seguida ante su positividad.

## MATERIALES Y MÉTODOS:

Estudio retrospectivo descriptivo. Se realizó determinación de autoanticuerpos (anti-sp100, anti-gp210, anti-PML, anti-LKM, anti-LC1, anti-SLA, anti-AMA M2), mediante inmunoblot, en pacientes que habían sido remitidos para determinación de ANA, en los que el resultado fue positivo con patrón de puntos nucleares durante los años 2012-2013 (n=27).

## RESULTADOS:

25 fueron mujeres (92.6%) y 2 hombres (7.4%). Edad media 59 años (34-88). Número de peticiones expresadas de anti-sp100 0 (0%), número de determinaciones

de anti-sp100 indicadas por el facultativo especialista en Inmunología ante el patrón de ANA fue 27 (100%). Especialidades de las consultas de procedencia de las muestras: digestivo (29%), reumatología (18%), atención primaria (18%), hematología (11%), geriatría (8%), neumología (4%), neurología (4%), dermatología (4%), inmunología (4%). Pacientes con diagnóstico previo de HAI 5 (18.5%), diagnóstico previo o final de enfermedad autoinmune no hepática 6 (22.5%), no diagnóstico previo o final de enfermedad autoinmune 16 (59%).

Casos en los que el médico de origen no consideró relevante el resultado de anti-sp100 en su proceso diagnóstico 15 (52%), lo consideraron relevante 13 (48%), de ellos su actitud fue remitir a otro especialista 12 (92%) (a digestivo 58%; reumatología 33%; internista 8%), siguieron ellos mismos (reumatología) 1 (8%). Están en seguimiento actual 9/27 (33%) (5 con diagnóstico previo de HAI; 2 por hipertransaminasemia; 1 hepatitis vírica; 1 síndrome antifosfolípido). Pacientes con bioquímica hepática 23 (85%) alterada 70% (colestásico 70%, citolítico 7%, mixto 7%), normal 30%. Otros autoanticuerpos asociados (80%): PML (67%), AMA (52%), gp210 11% (resto LKM,LC1, SLA, Ro52).

#### CONCLUSIONES:

Existe un gran desconocimiento entre los facultativos de la existencia/utilidad de los anticuerpos anti-sp100, lo que conlleva en la mayoría de los casos a no continuar el proceso diagnóstico con pruebas específicas de patología hepática, así como no realizar un seguimiento de estos pacientes con el posible infradiagnóstico de patología autoinmune relacionada.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 264**

### EL ANÁLISIS POR CITOMETRÍA DE FLUJO DE LOS LINFOCITOS INTRAEPITELIALES, MEJORA EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDAD CELÍACA EN ADULTOS Y NIÑOS CON LINFOCITOSIS INTRAEPITELIAL

*Autor/a/s: SÁNCHEZ SALAZAR, MARÍA ISABEL; CUELLAS GUTIÉRREZ CONSTANTINA; DEL ÁRBOL DEL ÁRBOL OLGA;*

*Centro de trabajo: COMPLEJO ASISTENCIAL UNIVERSITARIO DE LEÓN*

*Localidad: LEÓN*

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

#### INTRODUCCIÓN:

Existen controversias sobre la relevancia de la linfocitosis duodenal (más de 25 linfocitos T CD3+/100 enterocitos) con arquitectura preservada de las vellosidades, en el diagnóstico de la enfermedad celíaca. La linfocitosis duodenal es la primera alteración mucosa observada en la enfermedad celíaca, pero el diagnóstico diferencial sobre este hallazgo es amplio.

#### OBJETIVOS:

Investigar si el fenotipaje por citometría de flujo, de los linfocitos intraepiteliales, añade valor a las técnicas inmunohistoquímicas de rutina de tinción de CD3, para establecer el diagnóstico de enfermedad celíaca.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Estudio prospectivo. Fenotipado por citometría de flujo de linfocitos intraepiteliales (usando los marcadores CD3 y TCR gamma delta), obtenidos de biopsias en fresco, realizadas por sospecha de enteropatía sensible al gluten en 141 pacientes en dieta con gluten (54 niños y 87 adultos) y biopsias de seguimiento en 50 pacientes adultos en dieta libre de gluten.

#### RESULTADOS:

Se encontró una correlación positiva entre la tinción inmunohistoquímica de linfocitos T CD3 y el análisis por citometría de flujo, al incluir el análisis de todas las biopsias con linfocitosis duodenal. El análisis de citometría de flujo reveló un incremento de los linfocitos T TCR gamma delta de forma específica en niños y adultos de reciente diagnóstico en dieta con gluten (media 28.88% del total de LT CD3+), y en los pacientes con diagnóstico previo de enfermedad celíaca en dieta sin gluten (media 27.78% del total de LT CD3+), en comparación con pacientes con dispepsia funcional (media 6.28% del total de LT CD3+,  $p < 0.0001$ ), y de los pacientes cuya sintomatología digestiva fue atribuida a infecciones, sobrecrecimiento bacteriano, enfermedades autoinmunes, inmunodeficiencias o toma de fármacos (media 7.31% del total de LT CD3+,  $p < 0.0001$ ).

#### CONCLUSIONES:

Nuestros resultados en 191 pacientes, muestran que añadir el análisis por citometría de flujo de las poblaciones de LT CD3+ TCR gamma delta, a la rutina del

estudio por inmunohistoquímica mejora la likelihood ratio del diagnóstico de enfermedad celíaca de 2.28 a 10.59 independientemente de la edad, dieta, serología y grado de afectación mucosa.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 265**

### ESTUDIO INMUNOFENOTÍPICO DE MIELOMA MEDIANTE CITOMETRÍA DE FLUJO

*Autor/a/s: MUÑOZ SANJUAN MARÍA ISABEL*

*Centro de trabajo: Servicio de Inmunología y Genética. HIC*

*Localidad: BADAJOZ*

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

#### INTRODUCCIÓN:

El mieloma múltiple (MM) es un trastorno clonal de linfocitos B en el que las células plasmáticas malignas se acumulan en médula ósea (MO), ocasionan lesiones líticas y producen una proteína anormal en exceso.

Las células plasmáticas del MM expresan algunos antígenos de forma anormal, lo que permite su identificación por citometría de flujo (CMF) y el seguimiento de la enfermedad mínima residual (EMR)

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se han analizado 57 muestras remitidas desde los servicios de Hematología de las áreas sanitarias de Badajoz (33), Mérida (17) y Llerena (7) durante el año 2012.

La edad media en hombres es de 63 años y en mujeres de 66 años y la incidencia por sexo es prácticamente la misma.

El diagnóstico de presunción fue de Mieloma Múltiple (33), Gammapatía Monoclonal (18), Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto (2), Plasmocitoma (1) y no informado (3).

Se realiza estudio inmunofenotípico en MO anticoagulada con EDTA. Se incubaba con una batería de anticuerpos monoclonales (AcMo) marcados con una combinación de 4 fluorocromos (FITC, PE, PerCpCy5.5, APC). Se estudia la expresión en superficie de los siguientes marcadores: CD38, CD138, CD45, CD19, CD56, CD117, así como la expresión intracitoplasmática de cadenas ligeras Kappa y Lambda. El método utilizado para marcar incluye lisado y lavado de la muestra. Las muestras se adquieren en un CMF FACSCalibur (Becton Dickinson) con el software CellQuest-Pro y se analiza con el programa Paint-a-gate

#### RESULTADOS:

De las 57 muestras estudiadas:

39 (68%) presentan un fenotipo de células plasmáticas mielomatosas.

5 (8,8%) presentan un fenotipo de células plasmáticas normales.

2 (3,5%) presentan un fenotipo compatible con GMSI

10 (17,5%) presentan 2 poblaciones:

- 9 presentan 1 población de células plasmáticas normales y otra población de células plasmáticas aberrante.

- 1 presenta 2 poblaciones de células plasmáticas aberrantes

1 (1,75%) no existe prácticamente población de células plasmáticas (0,004% de total) y la población B madura estudiada es policlonal.

#### CONCLUSIONES:

La citometría de flujo (CMF) es una herramienta de máxima utilidad en el estudio de gammapatías monoclonales, en áreas como el estudio de la EMR o el diagnóstico diferencial de las gammapatías monoclonales de significado incierto (GMSI) y Mieloma Múltiple (MM).

La CMF es un método objetivo, rápido y tiene una gran sensibilidad

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 266**

### OPTIMIZACIÓN DE ESTUDIOS INMUNOGENÉTICOS DE MIELOMAS EN MÉDULA ÓSEA

*Autor/a/s: MUÑOZ SANJUAN MARÍA ISABEL*

*Centro de trabajo: Servicio de Inmunología y Genética. HIC*

Localidad: BADAJOZ

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

### INTRODUCCIÓN:

El mieloma múltiple (MM) es una enfermedad producida por la proliferación de células plasmáticas clonales que expresan algunos antígenos de forma anormal, lo que permite su identificación por citometría de flujo (CMF) y el seguimiento de la enfermedad mínima residual (EMR). Puede presentar anomalías cromosómicas estructural y numérica.

La optimización de recursos permite obtener resultados en menor tiempo.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se han analizado 57 muestras remitidas desde los servicios de Hematología de las áreas sanitarias de Badajoz (33), Mérida (17) y Llerena (7) durante el año 2012.

Se solicitan estudios inmunofenotípicos a las 57 muestras y estudios citogenéticos a 52. El diagnóstico de presunción fue de Mieloma Múltiple (33), Gammapatía Monoclonal (18), Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto (2), Plasmocitoma (1) y no informado (3).

### RESULTADOS:

De las 57 estudios inmunofenotípicos se obtienen los siguientes **RESULTADOS:**

39 muestras (68%) presentan un fenotipo de células plasmáticas mielomatosas;

5 muestras (8,8%) presentan un fenotipo de células plasmáticas normales;

2 muestras (3,5%) presentan un fenotipo compatible con GMSI;

10 muestras (17,5%) presentan 2 poblaciones:

- 9 presentan 1 población de células plasmáticas normales y otra aberrante.

- 1 presenta 2 poblaciones de células plasmáticas aberrantes

1 (1,75%) no existe prácticamente población de células plasmáticas (0,004% de total) y la población B madura estudiada es policlonal.

De los 52 estudios citogenéticos solicitados:

Se realizan 33 (63,5%) de los cuales:

- 23 (69,7%) presentan cariotipo normal;

- 7 (21,2%) presentan cariotipo con alteraciones

- 3 estudios (9,1%) no se obtienen resultados:

19 (36,5%) no proceden dado los resultados obtenidos por citometría y/o previos de citogenética convencional y/o FISH

### CONCLUSIONES:

Una estrecha colaboración entre los distintos profesionales, da como resultado que se optimicen los estudios solicitados, obteniéndose resultados en menos tiempo y reducir costes.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 267**

### DETECCIÓN DE ALERGENOS EN LIQUIDOS AMINIOTICOS MEDIANTE ARRAYS

Autor/a/s: *Sanz Maroto Aroa, Ramos Carmen, Vivanco Fernando, Pastor Vargas Carlos, Cuesta Herranz Javier*

Centro de trabajo: *IIS-FJD*

Localidad: *Madrid*

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

### INTRODUCCIÓN:

Las alergias alimentarias están aumentando significativamente en nuestra sociedad situándose su prevalencia un 6% y 8% en niños menores de 3 años de edad y el 3% en adultos. La ingestión de cantidades mínimas de alérgenos alimentarios puede causar reacciones anafilácticas que pueden poner en peligro la vida del paciente alérgico. Por ello, cobra vital importancia la detección de dichos alérgenos. El objetivo de este trabajo ha sido estandarizar un array específico para la detección de un amplio panel de los alérgenos alimentarios, incluyendo los principales alérgenos ocultos descritos por la normativa europea. Además, hemos investigado su aplicación en la detección y estandarización de la presencia de alérgenos ocultos en líquido amniótico, ya que pueden ser causa de sensibilizaciones tempranas en recién nacidos.

### OBJETIVOS:

Desarrollar un array con anticuerpos que reconocen los principales alérgenos alimentarios e investigar su utilidad para la detección de dichos alérgenos en muestras de líquido amniótico, que pudieran explicar posibles sensibilizaciones tempranas en población infantil.

### MATERIALES Y MÉTODOS:

Las muestras de líquido amniótico fueron tomadas en Unidad de Reproducción Asistida y la Unidad de Diagnóstico Prenatal de la Fundación Jiménez Díaz entre la semana 15-20 y al finalizar el embarazo. Los arrays de anticuerpos fueron desarrollados por Raybiotech Inc., fijando los anticuerpos que reconocen los principales alérgenos alimentarios: Caseína bovina, beta-lactoalbumina, gliadina, parvalbumina, globulinas 2S, ovoalbumina, proteínas transportadoras de lípidos LTPs, thaumatina y profilina. Se analizaron de 20 líquidos amnióticos, 8 líquidos amnióticos obtenidos "a término" y 12 líquidos amnióticos obtenidos entre las semanas 15-20), siguiendo el protocolo facilitado por el fabricante, marcando las muestras con los fluoróforos e incubándolas con los arrays. Los arrays se escanearon usando un Axon Genepix 4200A Profesional (Molecular Devices) con el programa Genepix Pro 6.0.. Una vez escaneada la imagen los datos se analizaron con el programa Acuity 4.0 (Molecular Devices).

### RESULTADOS:

Se optimizaron las condiciones de los arrays usando extracto de alimentos, (pescado, frutos secos, huevo, leche, frutas) juntos y por separado, observando que con cantidades totales de 0.005ug existe detección, que el método es reproducible y específico.

Se realizaron 20 arrays de líquidos amnióticos (de diferentes tiempos de recogida) con los cuales se observa que las uniones con el anticuerpo son mayores en etapas tempranas del embarazo que "a término" del embarazo. Además observamos una mayor señal en las uniones con los anticuerpos frente a los alérgenos más comunes en la dieta como leche de vaca (caseína bovina y beta-Lactoalbumina), el huevo (ovoalbumina) y harina de trigo (gliadina)

### CONCLUSIONES:

Hemos desarrollado un método altamente sensible, eficaz y rápido para la detección de alérgenos alimentarios. Hemos detectado la presencia de alérgenos en muestras de líquido amniótico. Esta metodología nos abriría un gran campo de actuación que permitirá la implantación de arrays personalizados para su uso tanto de fabricantes como de consumidores.

# MICROBIOLOGÍA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 004

## ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO MOLECULAR DE CEPAS DE M. TUBERCULOSIS MEDIANTE DIVERSILABTM

Autor/a/s: ALEJANDRO BARBANCHO MARTIN. JOSE ANTONIO BERNAL CACERES.

Centro de trabajo: HOSPITAL COSTA DEL SOL.

Localidad: MARBELLA.

Correo electrónico del primer firmante: abarbancho@hotmail.com

### INTRODUCCIÓN:

DiversiLabTM (Bio-Merieux) es un sistema de genotipado molecular que permite la identificación y la distinción entre diferentes cepas de bacterias y hongos. Actualmente, se encuentra disponible un kit comercial que permite la discriminación entre diferentes cepas de M. tuberculosis complex. DiversilabTM utiliza una técnica de REP-PCR (repetitive extragenic palindrom-PCR) que detecta secuencias repetidas encontradas a lo largo del genoma. Ha sido muy usada para estudios epidemiológicos en bacilos Gram negativos, donde se ha probado su buena reproducibilidad y fiabilidad. El objetivo de estas técnicas moleculares es el de definir la relación existente clonal o no, entre los aislamientos incluidos. La cepas relacionadas provienen de una expansión clonal de un precursor único y poseen un nivel de similitud significativamente superior al que se encontraría entre aislamientos no relacionados de la misma especie.

El objetivo de nuestro estudio es comparar diferentes cepas de M.tuberculosis complex para relacionarlas entre si y poner en evidencia posibles brotes, reinfecciones o contaminaciones cruzadas en el laboratorio.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Hemos estudiado un total de 62 cepas provenientes de distintos centros hospitalarios (Hospital Costa del Sol, Hospital Carlos Haya y Hospital Virgen de la Victoria de Málaga, Hospital Clínico de Granada y Hospital Torrecárdenas de Almería).

De éstas, 29 se relacionaron con posibles contaminaciones de los cultivos en el laboratorio, 31 con posibles brotes familiares o comunitarios y 2 con reinfección por la misma cepa.

Todas las muestras se procesaron según las recomendaciones del fabricante. A partir de medio de cultivo sólido Löwestein-Jensen, se realiza una extracción, posterior PCR y se inocula en una placa para realización de la electroforesis en un sistema automatizado. El software informático estudia la similitud entre los diferentes patrones presentados por las cepas para formar los clústeres.

### RESULTADOS:

Después de analizar las cepas, se considera que son indistinguibles o indiferenciables cuando presentan patrones de más del 95% de similitud.

De las posibles contaminaciones se demostraron como indistinguibles 23 (79,3%) y 6 (20,7%) totalmente diferentes. Estos datos indicarían que existió contaminación cruzada en el laboratorio en el 79,3% de los casos estudiados.

De los posibles brotes detectados, 16 (51,6%) cepas eran indistinguibles entre ellas y 15 (48,4%) eran diferentes. Por lo que se demostró que existía relación epidemiológica en un 51,6% de las cepas sospechosas de pertenecer al mismo clúster.

Se estudiaron dos cepas de un mismo paciente que se aislaron después de finalizado un año de tratamiento de la primera, resultando indistinguibles entre ellas, por lo que se consideró como una reinfección por la misma cepa.

### CONCLUSIONES:

La técnica REP-PCR es una técnica sencilla, rápida y discriminatoria para valorar un posible brote, una contaminación cruzada o una reinfección en cepas de M. tuberculosis complex a partir de medios de cultivo sólidos. Se deberían hacer estudios comparativos con técnicas de referencia en epidemiología molecular para M. tuberculosis complex.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 009

## ESTUDIO DE LA INFECCIÓN URINARIA EN ATENCIÓN PRIMARIA.

Autor/a/s: Diaz Zayas, María Dolores; Domínguez López, María Teresa; López Gutiérrez, Montserrat; Nieto Aguado, María Soledad; García López, María Dolores.

Centro de trabajo: H. Comarcal de la Axarquía

Localidad: Vélez-Málaga

Correo electrónico del primer firmante: jmyonte@hotmail.com

### INTRODUCCIÓN/OBJETIVOS:

Las infecciones del tracto urinario (ITU) son un problema frecuente en las consultas de Atención Primaria. Son en frecuencia la segunda causa de visitas al Médico de Familia por patología infecciosa tras las consultas por patología respiratoria. Nuestro objetivo es conocer la etiología por grupo de edad en nuestra área de influencia.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Estudio descriptivo retrospectivo de ITU en Atención primaria del AGS Este de Málaga-Axarquía desde el 01.01.2009 hasta el 30.09.2013. Las muestras recibidas se someten a una screening previo mediante el sistema Sysmex UF-1000® (Roche). Las orinas positivas se procesan en medio cromogénico CPS-ID3® (bioMérieux) mediante asa calibrada de 10 µl. La identificación se realizó con el sistema automatizado Vitek2® (bioMérieux).

### RESULTADOS:

Se recibieron 67034 muestras, de las cuales 50422 (75,22%) tuvieron resultado negativo y 10877 (16,23%) fueron positivas. Los microorganismos totales aislados fueron: Candida spp., 0,79%; E. faecalis, 7,58%; E. coli, 60,88%; K. pneumoniae, 12,81%; P. mirabilis, 6,12%; P. aeruginosa, 1,69%; S. aureus, 0,45%; S. saprophyticus, 1,41%; S. agalactiae, 2,55%; Otros, 5,13%. Por grupos de edad los resultados fueron: 0-5 años (3283 muestras, 1312 hombres, 1971 mujeres, 2208 cultivos negativos, 656 cultivos positivos); 6-15 años (2600 muestras, 731 hombres, 1869 mujeres, 2230 cultivos negativos, 312 cultivos positivos); 16-45 años (31681 muestras, 2850 hombres, 28831 mujeres, 25108 cultivos negativos, 3253 cultivos positivos); 46-65 años (13050 muestras, 4342 hombres, 8707 mujeres, 10294 cultivos negativos, 2104 cultivos positivos); mayores de 65 años (16420 muestras, 5813 hombres, 10607 mujeres, 10582 cultivos negativos, 4552 cultivos positivos). Los microorganismos aislados por grupos de edad y sexo (hombre y mujer) se recogen en la siguiente tabla.

Microorganismos	0 - 5 AÑOS		6 - 15 AÑOS		16 - 45 AÑOS		46 - 65 AÑOS		> 65 AÑOS	
	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer
Candida ssp.	0	1	0	1	3	62	4	7	22	20
E. faecalis	70	43	10	19	57	452	75	89	168	171
E. coli	175	289	32	277	246	2314	501	1626	837	2972
K. pneumoniae	43	49	3	19	59	445	86	273	210	763
P. mirabilis	79	43	9	27	21	211	25	102	80	234
P. aeruginosa	17	14			24	17	41	14	83	47
S. aureus				2	3	31	3	9	13	7
S. saprophyticus	3			4	2	162	1	28	5	10
S. agalactiae	1	1		3	2	249	7	71	12	42
Total general	391	441	54	353	421	3979	756	2239	1455	4292

## CONCLUSIONES:

En todos los grupos de edad se reciben más muestras de mujeres.

El mayor nº de muestras se recibe dentro del grupo de edad de 16-45 años, seguido del grupo de > 65 años.

El microorganismo más frecuente es *E. coli*.

Gran diferencia en los aislamientos de *S. saprophyticus* y *S. agalactiae* en mujeres en los grupos de mayor muestras recibidas.

*P. aeruginosa* es más frecuente en hombres en todos los grupos de edad.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 010

### CULTIVO DE LOWËSTEIN Y RENTABILIDAD DE UNA TINCIÓN FLUORESCENTE PARA MICOBACTERIAS.

*Autor/a/s: Domínguez López, María Teresa; López Gutiérrez, Montserrat; Díaz Zayas, María Dolores; Nieto Aguado, María Soledad; Pardo Molina, María Belén.*

*Centro de trabajo: H. Comarcal de la Axarquía*

*Localidad: Vélez-Málaga*

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

#### INTRODUCCIÓN:

Las micobacterias son un grupo de microorganismos de gran importancia clínica, ya que existen múltiples especies que son agentes causales de diversas infecciones humanas con una importante morbilidad y mortalidad. Dentro de este grupo se encuentra *Mycobacterium tuberculosis*. Unos de los métodos utilizados para su detección es la Tinción de AURAMINA donde los microorganismos que son BAAR (bacilos ácido-alcohol resistentes) bajo la luz ultravioleta, aparecen fluorescentes de color amarillo o naranja dependiendo del filtro empleado. Para su crecimiento se utiliza el medio de Lowënstein-Jensen que requiere de suplementos para el soporte de crecimiento de micobacterias. Estas sustancias proporcionan proteínas y ácidos grasos necesarios para el metabolismo de las micobacterias. El verde de malaquita inhibe parcialmente el desarrollo bacteriano.

#### OBJETIVO:

El objetivo es estudiar la rentabilidad de la Tinción de Auramina con respecto al medio Lowënstein en nuestro Laboratorio.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Recoger los resultados de Tinción de Auramina y crecimiento en Lowënstein desde 01/01/2010 al 30/06/2013. Comparamos los resultados de ambos estudiando la rentabilidad de esta prueba.

#### RESULTADOS:

En nuestro estudio, se han recibido 3445 muestras pertenecientes a pacientes del A.G.S Este de Málaga - Axarquía, durante el periodo comprendido entre Enero de 2010 hasta Junio de 2013. De las cuales en el 2010 fueron Lowënstein positivas 33 muestras (4 *M. avium*, 2 *M. chelonae*, 4 *M. fortuitum*, 1 *M. gordonae*, 4 *M. lentiflavum*, 17 *M. tuberculosis*, 1 *M. tuberculosis complex*) y Tinción de Auramina positivas 4 con una rentabilidad del 12,2%. En el 2011 fueron Lowënstein positivos 39 (3 *M. avium*, 1 *M. caprae*, 1 *M. fortuitum*, 2 *M. gordonae*, 1 *M. intracellulare*, 3 *M. lentiflavum*, 1 *M. malmoense*, 25 *M. tuberculosis*, 2 *M. tuberculosis complex*) y Tinción de Auramina positivas 13 con una rentabilidad del 33,33%. En el 2012 los Lowënstein positivos fueron 16 (11 *M. tuberculosis*, 5 *M. tuberculosis complex*) y Tinción de Auramina positivas 16 con una rentabilidad del 100%. En el 2013 hasta Junio los Lowënstein positivos fueron 9 (3 *M. africanum*, 4 *M. tuberculosis*, 2 *M. tuberculosis complex*) y Tinción de Auramina positivas 3 con una rentabilidad del 33,33%.

#### CONCLUSIONES:

La rentabilidad de la Tinción de Auramina ascendió durante los años 2011 y 2012 con respecto al año 2010, estando dentro de los resultados de rentabilidad de esta prueba según lo descrito en estudios nacionales e internacionales de grupos de micobacteriología.

Durante 2013 ha vuelto a descender la rentabilidad de la prueba. La causa de este descenso se debe a que, durante este año, de los 9 aislamientos positivos en Lowënstein, 6 de ellos correspondieron a 2 pacientes y se aislaron micobacterias atípicas con muy poca carga bacteriana.

Además y a tenor de estos resultados debemos revisar nuestro protocolo de realización de la Tinción de Auramina (forma de extensión, a partir de la zona más purulenta de la muestra, grosor de la extensión) para aumentar la rentabilidad de la misma.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 013

### RESISTENCIA ANTIBIÓTICA DE LOS AISLAMIENTOS EN EXUDADOS ÓTICOS EN EL A.G.S. ESTE DE MÁLAGA 2010-2012.

*Autor/a/s: López Gutiérrez, Montserrat; Díaz Zayas, María Dolores; Domínguez López, María Teresa; Nieto Aguado, María Soledad; García López, María Dolores.*

*Centro de trabajo: H. Comarcal de la Axarquía*

*Localidad: Vélez-Málaga*

*Correo electrónico del primer firmante: montse-mami@hotmail.com*

#### INTRODUCCIÓN:

La otitis es la inflamación del oído, tanto del canal auditivo externo como del oído medio, cuya causa más frecuente es la infección bacteriana. La otitis media aguda (OMA) representa una de las patologías más frecuentes en la época estival, pero su diagnóstico puede ser difícil; la OMA no siempre es sintomática y los métodos y dispositivos de diagnóstico, escasos. Al mismo tiempo, dado el alto índice de curación espontánea, puede existir una subestimación del número real de casos. La resistencia a los antimicrobianos de los gérmenes aislados con mayor frecuencia es un factor a tener importancia a la hora de poder establecer pautas de tratamiento empírico.

#### OBJETIVOS:

Estudiar los resultados de resistencia a los antimicrobianos de los microorganismos más frecuentemente aislados en muestras de exudados óticos durante el periodo 2010-2012, así como la tendencia de la misma en los 3 años estudiados.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se recogen de manera retrospectiva los resultados de los cultivos y estudios de sensibilidad a los antimicrobianos de exudados óticos realizados en la sección de microbiología de nuestro laboratorio desde el 01/01/2010 hasta el 31/12/2012. Las muestras fueron sembradas para investigación de bacterias y hongos según el protocolo establecido en nuestro laboratorio. Los microorganismos aislados fueron identificados mediante el sistema automatizado Vitek® 2 (bioMérieux), utilizándose el mismo sistema para la realización del estudio de sensibilidad a los antimicrobianos.

#### RESULTADOS:

Los aislamientos más frecuentes fueron *Pseudomonas aeruginosa* (28,61%), *Staphylococcus aureus* (13,88%) y *Haemophilus influenzae* (4,77%) Los resultados de sensibilidad (%S) de estos microorganismos se recogen a continuación. *P. aeruginosa*: Amikacina, 96,51%; Ciprofloxacino, 87,25%; Ertapenem, 100%; Cefepime, 95,61%; Gentamicina, 90,15%; Imipenem, 95,61%; Levofloxacino, 87,50%; Netilmicina, 85,71%; Piperacilina, 90,10%; Ceftazidima, 95,12%; Tobramicina, 98,03%. *S. aureus*: Amoxicilina-Ácido Clavulánico, 93,18%; Daptomicina, 100%; Eritromicina, 78,57%; Gentamicina, 92,93%; Levofloxacino, 92,93%; Oxacilina, 91,92%; Rifampicina, 90,91%; Tobramicina, 88,89%; Vancomicina, 98,99%. *H. influenzae*: Ampicilina, 82,35%; Amoxicilina-Ácido clavulánico, 94,12%; Cefuroxima, 94,12%; Cefotaxima, 100%; Cloranfenicol, 100%.

#### CONCLUSIONES:

El microorganismo aislado con mayor frecuencia fue *P. aeruginosa*, seguido de *S. aureus* y *H. influenzae*.

*P. aeruginosa* presenta una elevada sensibilidad a la mayoría de los antimicrobianos utilizados en infecciones óticas, sobre todo a aminoglucósidos.

*S. aureus* muestra una elevada sensibilidad a todos los antimicrobianos, siendo un 91,92% metilicín-sensibles.

*H. influenzae* presenta una sensibilidad inferior a ampicilina y muy elevada al resto de antimicrobianos.

**CUPRIAVIDUS PAUCULUS. IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA. MALDI-TOF MS**

Autor/a/s: BARBA MIRAMONTES, MARIA JOSÉ

Centro de trabajo: CHUAC

Localidad: A CORUÑA

Correo electrónico del primer firmante: merymbst@gmail.com

**INTRODUCCIÓN:**

Cupriavidus pauculus es un bacilo gram negativo con metabolismo oxidativo, que se ha aislado de muestras de agua y suelo. Recibe su nombre del latín "pauculus" que significa raro o pocos, debido que esporádicamente, causa infección en humanos. Su identificación se ve facilitada en el laboratorio por las nuevas tecnologías como la espectrometría de masas de desorción/ionización laser (MALDI-TOF MS).

**OBJETIVO:**

El objetivo de nuestro trabajo es la identificación de un bacilo gram negativo aislado en una muestra clínica.

**MATERIAL Y MÉTODOS:**

Se envía al laboratorio de microbiología un fragmento óseo, de un paciente de 72 años, en un recipiente estéril. Su historia clínica refiere los siguientes datos: diabético, con un mal perforante plantar del miembro inferior derecho (MID), en el que se realizó un desbridamiento de quirúrgico del MID y resección de la cabeza del segundo metatarsiano MID. La muestra se procesó añadiendo caldo de tioglicolato enriquecido con carbonato cálcico y se agitó. El líquido resultante se sembró para el cultivo de microorganismos aerobios en placas de: Agar sangre, Agar chocolate y Agar Columbia CNA + 5 % sangre de cordero, 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 anaerobios se realizó la siembra en: Agar Schaedler, Agar Schaedler Kanamicina-Vancomicina y Agar Columbia CNA + 5 % sangre de cordero que se incubaron en atmósfera anaeróbica a 37°C.

Al cabo de 24 horas en el cultivo aerobio se observaron 2 colonias diferentes: una de ellas se procedió a su identificación y antibiograma por métodos automatizados (MicroScan Walk-Away®).

Y la otra colonia, la que analizamos en este trabajo, crecía en placas de Agar sangre, Agar chocolate, Agar McConkey (escaso crecimiento a las 24 horas). Se realizaron pruebas bioquímicas: catalasa, oxidasa, Agar Hierro de Kligler (KIA), Citrato de Simmons Agar, Agar Urea de Christensen.

Además se hicieron pruebas bioquímicas y enzimáticas con sistema API: reducción de nitratos en nitritos, reducción de nitratos en nitrógeno, formación de indole (triptófano), fermentación de glucosa, detección de: arginina dihidrolasa, ureasa y B-galactopiranosida, hidrólisis de esculina y gelatina, asimilación de: glucosa, arabinosa, manosa, manitol, N-acetil-glucosamina, maltosa, gluconato potásico, ácido cáprico, ácido adípico, ácido málico, citrato trisódico y ácido fenilacético .

Se estudió la sensibilidad del microorganismo en Agar Muller-Hinton a 37°C en atmósfera de aire.

La identificación final la realizamos mediante espectrometría de masas de desorción/ionización laser (MALDI-TOF MS).

**RESULTADOS:**

Una de las colonias era un patógeno habitual en el laboratorio Staphylococcus aureus resistente a la meticilina (MRSA).

En la colonia interés de nuestro trabajo se realizó una tinción gram y se observaron bacilos gram negativos. Respecto a las pruebas bioquímicas y enzimáticas: kligler alcalino/alcalino: no fermenta glucosa y no fermenta lactosa (no fermentador), catalasa positiva, oxidasa positiva, hidroliza la urea, no reduce nitratos a nitritos, no produce hidrólisis de la gelatina ni de la esculina, no produce indole, la ornitind Descarboxilasa y arginina-dihidrolasa son negativas, no fermenta D- glucosa, no tiene actividad B-galactosidasa. Respecto a las pruebas de asimilación: negativa la asimilación de: glucosa, arabinosa, manosa, manitol, maltosa y N-acetil-glucosamina; positiva a la asimilación de: gluconato potásico, ácido adípico, ácido málico, ácido cáprico y citrato trisódico y ácido fenilacético.

El sistema API dio como resultado de la identificación CDC gr.IV C-2 con un 98.7%.

La identificación por MALDI-TOF MS del microorganismo fue Cupriavidus pauculus con un score de 2.39.

Respecto a la sensibilidad del microorganismo era similar a la previamente documentada por otros autores. Sensible a ciprofloxacino, levofloxacino, cefepime, piperacilina/tazobactam y resistente a aztreonam y aminoglicósidos (gentamicina, amikacina y tobramicina).

**CONCLUSIÓN:**

Es la primera vez que se aísla dicho germen en nuestro hospital.

Las pruebas bioquímicas no llegan a identificar al grado de especie, lo incluyen en el grupo IV C-2 de los CDC (Centers for disease control and prevención). En contraste con la identificación de MALDI-TOF MS que el resultado es a nivel de especie.

Mientras que los métodos bioquímicos necesitan un mínimo de 24 horas para permitir el crecimiento bacteriano, la espectrometría de masas MALDI-TOF MS permite la identificación en simplemente unos minutos con 1 única colonia,

Por ello consideramos que la espectrometría de masas de desorción/ionización laser (MALDI-TOF MS) como un método rápido, económico y seguro de gran utilidad para la identificación de bacterias poco comunes en patología humana como el Cupriavidus pauculus.

**EVALUACIÓN DE LA IDENTIFICACIÓN BACTERIANA REALIZADA DIRECTAMENTE DEL FRASCO DEL HEMOCULTIVO MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE MASAS (MALDI-TOF MS)**

Autor/a/s: BARBA MIRAMONTES, MARIA JOSÉ

Centro de trabajo: CHUAC

Localidad: A CORUÑA

Correo electrónico del primer firmante: merymbst@gmail.com

**INTRODUCCIÓN:**

La rapidez de la identificación bacteriana cobra gran importancia en los casos de bacteriemia. El hemocultivo es la muestra clínica que nos permite su confirmación diagnóstica. Pero su procesamiento habitual implica la realización de subcultivos que retrasan dicha identificación.

**OBJETIVO:**

El objetivo de este estudio ha sido: comprobar si la identificación directa desde el frasco del hemocultivo positivo mediante MALDI-TOF MS, permite acortar en forma significativa los tiempos de respuesta manteniendo la fiabilidad.

**MATERIAL Y MÉTODOS:**

Se procesaron 134 hemocultivos que fueron considerados positivos por el equipo automatizado BACTEC (detecta producción de CO<sub>2</sub> por parte de los microorganismos). Las muestras se procesaron siguiendo el protocolo MALDI Sepsityper Kit (Bruker®). Se transfirió 1 ml de sangre de los frascos a un tubo Eppendorf® y se añadió 200 µL de Lysis Buffer (Bruker®). Después de agitar la muestra se centrifugó durante 1 minuto a 13.000 rpm, tras eliminar el sobrenadante, al sedimento se le añadió 1 mL de Solución de lavado (Bruker®) y se centrifugó de nuevo 1 minuto a 13.000 rpm. El sedimento se resuspendió añadiendo 300 µL de agua destilada y posteriormente se añadió 900 µL de etanol. A continuación se realizó el protocolo de extracción con ácido fórmico y acetoneitrilo. La lectura se efectuó en el MALDI-TOF (Bruker®) siguiendo el protocolo recomendado. Se realizó al mismo tiempo la tinción de Gram y se subcultivó en atmósfera aeróbica y anaeróbica según protocolo. Del crecimiento se identificaron las colonias utilizando MALDI-TOF MS (mediante la identificación por muestra directa en la tarjeta siguiendo el protocolo aconsejado) y métodos bioquímicos si eran necesarios.

**RESULTADOS:**

De los 137 hemocultivos:

- En 98 casos concordaron tanto la identificación del hemocultivo directo como del subcultivo: 1 B.thetaaomicron, 1 Bacillus licheniformis, 1 Bacillus pumilus, 1 Bifidobacterium longum, 1 Candida albicans, 1 Dermabacter hominis,

3 E.aerogenes, 2 E.asburiae, 18 E.coli 1 E.faecalis, 1 E.faecium, 1 Granulicatella adiacens, 5 K.pneumoniae, 1 Lactobacillus paracasei, 1 Micrococcus luteus, 1 Moraxella catarrhalis, 1 P.acnes, 1 Ps.aeruginosa, 1 S.pyogenes, 1 S.agalactiae, 8 S.aureus, 2 S.capitis, 1 S.dysgalactiae, 19 S.epidermidis, 1 S.haemolyticus, 19 S.hominis, 2 S.pneumoniae, 2 S.pyogenes.

- En 22 casos dieron poco fiable (score <1.7) la identificación directa del hemocultivo: 1 resultó ser falso positivo, 1 Propianobacterium, 5 S.epidermidis, 2 E.faecium, 1 S.pettenkoferi, 1 Gemella morbillorum, 1 S.hominis, 1 Bacillus megaterium, 2 Coryne mufacienses, 2 S.pneumoniae, 1 S. salivarius, 1 K.oxytoca, 1 Corynebacterium spp, 1 E.coli, 1 Micrococcus.
- En 14 casos no generó ningún espectro la extracción realizada a partir del hemocultivo directo: 3 resultaron ser falsos positivos, 2 S.hominis, 5 S.epidermidis, 1 Dermacoccus nishinom, 1 E.faecium, 1 S.capitis, 1 S.aureus.
- En 3 casos fueron bacteriemias mixtas, que en el hemocultivo directo se identificaron como: 1 P.mirabilis (resultaron 3 microorganismos P.mirabilis, E.coli, E.faecalis), 1 S.epidermidis (resultaron 2 microorganismos S.hominis, S.capitis), 1 S.capitis (resultaron 2 microorganismos S.capitis, S.oralis).

### CONCLUSIONES:

La comparativa entre los datos indica que siempre que hubo identificación fiable (score  $\geq 1.7$ ) a partir de la muestra directa, ésta concordó con la identificación posterior a partir del crecimiento en los subcultivos, salvo las bacteriemias mixtas (en las que sólo se identificó un germen). En estos casos es de gran utilidad la tinción Gram realizada a partir del hemocultivo que puede orientar a la presencia de más de un tipo de microorganismo.

La identificación directa desde el frasco de hemocultivo mediante MALDI-TOF, utilizando el protocolo MALDI Sepsityper Kit permite, que en sólo media hora contando desde la positividad del frasco, dar un resultado preliminar al clínico, lo que facilita la elección de la pauta antimicrobiana, y por consiguiente la mejoría del paciente.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 026**

### INFLUENCIA DEL MEDIO DE CULTIVO EN LA IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS (MALDI-TOF MS)

*Autor/a/s: MARÍA JOSÉ BARBA MIRAMONTES*

*Centro de trabajo: MARÍA JOSÉ BARBA MIRAMONTES*

*Localidad: A CORUÑA*

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

### INTRODUCCIÓN:

La identificación de microorganismos basada en la espectrometría de masas (MALDI-TOF MS) es una técnica utilizada como método diagnóstico, útil, rápido y confiable para la identificación de rutina de microorganismos patógenos mediante el perfil de proteínas. Las proteínas ribosomales, al ser estables y abundantes en su expresión, permitirían su evaluación independiente del medio de cultivo. Estudios que evaluaron los espectros obtenidos de distintos medios de cultivo (Agar Columbia, Mc Conkey), muestran una variación que no sería importante a la hora del análisis. Sin embargo, no existe mucha información de la influencia del medios cromogénicos en la identificación.

### OBJETIVO:

Evaluar la influencia del medio de cultivo cromogénico CHROMagar™ Candida en la identificación rápida de levaduras por MALDI-TOF MS.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realizó la identificación de 118 levaduras provenientes de muestras clínicamente significativas sembradas en CHROMagar™ Candida. La identificación se llevó a cabo de una sola colonia de levadura siguiendo la siguiente rutina: Primero se realizó una calibración, que se lleva a cabo de manera automática, utilizando un estándar comercial (extracto de Escherichia coli DH5 más 2 proteínas adicionales: RNAsa A y mioglobina para cubrir un intervalo de 4 a 17kDa). Para la preparación de la muestra: Se depositó una pequeña cantidad de una colonia directamente sobre la placa, sobre ella se aplicó 1 microlitro de la solución matriz (solución saturada de ácido alfa-ciano-4-hidroxinámico en acetonitrilo al 50% y ácido trifluoroacético al 2,5%) y se dejó secar a temperatura ambiente. Si no obteníamos un resultado fiable realizábamos extracción mediante etanol-ácido fórmico para

dar la identificación ese día (si el resultado era urgente) y/o una siembra en Agar sangre para hacer su lectura al día siguiente. Las medidas se realizaron en un espectrómetro de masas MALDI-TOF-TOF Autoflex II (Bruker Daltonics GmbH, Leipzig, Alemania). El espectro obtenido de los microorganismos problema se procesó con el programa MALDI Biotyper 3.1. La lista de picos generada se comparó con la biblioteca de referencia del MALDI Biotyper 3.1. Las identificaciones se clasificaron como fiables a nivel de especie (puntuación en la comparación entre el perfil del microorganismo problema y la base de datos  $\geq 2$ ), fiable a nivel de género (puntuación  $\geq 1,7$  y  $< 2$ ) y no fiable (puntuación  $< 1,7$ ).

### RESULTADOS:

\*80 levaduras fueron identificadas correctamente directamente de la colonia sembrada en CHROMagar™ Candida:

- 15 Candida parapsilosis
- 30 Candida glabrata
- 7 Candida tropicalis
- 5 Candida albicans
- 5 Candida lusitanae
- 1 Candida orthopsilosis
- 1 Candida intermedia
- 1 Candida dubliniensis
- 4 Candida guilliermondii
- 2 Candida kefyr
- 2 Candida lipolytica
- 4 Candida pelliculosa
- 1 Candida metapsilosis
- 1 Candida krusei
- 1 Candida haemulonii

\*28 candidas no pudieron ser identificadas directamente del CHROMagar™ Candida. De estas candidas:

- 5 no se realizó extracción ya que dieron correcta identificación de colonia directa del Agar sangre: 2 Candida parapsilosis, 2 Candida glabrata y 1 Candida albicans.
- 18 obtuvieron identificación correcta tanto después de hacer la extracción como de colonia directa del Agar sangre: 7 Candida parapsilosis, 6 Candida metapsilosis, 2 Candida glabrata, 1 Candida robusta, 1 Candida lusitanae, 1 Candida albicans.
- 3 sólo se identificaron correctamente de colonia directa del Agar sangre: 1 Geotrichum silvícola, 1 Candida glabrata, 1 Candida albicans.
- 2 sólo se identificaron correctamente después de hacer la extracción: 1 Candida parapsilosis y 1 Candida metapsilosis.

\*10 no pudieron ser identificadas por MALDI-TOF.

### CONCLUSIÓN:

La identificación de levaduras por espectrometría de masas MALDI-TOF está influenciada por el tipo de medio. Se observa un mejor desempeño a partir de la colonia directa del Agar sangre que de CHROMagar™ Candida (medio cromogénico).

Considerando que el protocolo de identificación por extracción es más tedioso, que el método de identificación por medio de colonia directa, unido al tiempo y gasto de reactivos; sería aconsejable realizar la identificación de levaduras, siempre que sea posible, a partir de medios no cromogénicos como el Agar sangre.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 028**

### PREVALENCIA DE HEPATITIS C, COINFECCIONES CON HIV Y TREPONEMA PALLIDUM

*Autor/a/s: MARÍA LUISA FAFIÁN ARES, MARÍA JOSÉ MUÑO ANDRADE*

*Centro de trabajo: COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO A CORUÑA*

*Localidad: A CORUÑA*

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

**INTRODUCCIÓN:**

En España, en la población general, la prevalencia de anticuerpos frente al virus de la hepatitis C (VHC) se sitúa en torno al 1,6 y el 2,6 % ,la tasa de incidencia de sífilis en 2010 era de 6,39/100.000 habitantes y las tasa anuales de nuevos diagnósticos por millón de habitantes de HIV varían de 99,5 en 2010 y 84,1 en 2011.

Los estudios realizados revelan que la coinfección entre ambos virus(VHC, VIH) aumenta la probabilidad de sufrir una insuficiencia hepática grave, que puede acabar con la vida del paciente teniendo un riesgo diez veces superior de desarrollar cirrosis, debido a que acelera significativamente la progresión del daño.

Controlar la hepatitis C es, por tanto, imprescindible para mejorar el pronóstico de estos pacientes. Con respecto a la sífilis convive con la hepatitis C debido, al consumo de drogas y relaciones sexuales mayoritariamente.

**OBJETIVOS:**

El presente estudio tiene como objetivo general contribuir al conocimiento de la infección por VHC en el área sanitaria de A Coruña, y como objetivos específicos determinar la prevalencia y coinfecciones de anticuerpos VHC (+)VIH (+) y T. Pallidum (+) con respecto a la edad y el sexo.

**MATERIAL Y MÉTODOS:**

Cobas 8000/Cobas e 602 –Roche Diagnostic

Auto-Lia 48 INNOGENETICS:TECNICAS DE WESTERN- BLOT ,INMUNOBLOT e INNO-LIA SIFILIS

LIAISON XL- DiaSorin

En el año 2013 se estudian las serologías solicitadas en la primera valoración de 17170 pacientes ,para la determinación del aHCV de las cuales se realizaron 17063 (siendo positivas:1131.,negativas:15928.,zona gris:4(107fueron rechazadas por:muestra insuficiente,mal identificadas y con resultados previos.El rango de edad: 0-96 años.En la segunda valoración nos centramos en los confirmatorios de Hepatitis C(703),HIV(132) Treponema Pallidum(603).

**RESULTADOS:**

RESULTADOS	CONFIRMATORIOS		
	WESTERN-BLOT	INMUNOBLOT	TREPONEMA PALLIDUM
POSITIVOS	76	229	179
NEGATIVOS	32	90	29
INDETERMINADO		19	17
NUEVA MUESTRA		18	
TOTALES	108	356	225

CONFIRMATORIOS POSITIVOS						
EADADES	HCV		HIV		TREPONEMA PALLIDUM	
	MUJERES	HOMBRES	MUJERES	HOMBRES	MUJERES	HOMBRES
0-29	2	11	10	10	8	20
30-49	19	77		49	17	48
50-59	10	38		7	10	15
60-69	11	11			7	20
70-79	11	12			9	17
80-89	18	9			5	3
TOTALES	71	158	10	66	56	123

**CONCLUSIONES:**

El índice de prevalencia de la hepatitis C en el área de A Coruña en el año 2013 es de 6,6% y la incidencia de 1,34%.

La coinfección es de: "6" casos de HCV e HIV (5 hombres de 48 años, 1 mujer de 41 años) y "8" casos de coinfección HCV y Treponema pallidum, ( 5 hombres 45 años y 3 mujeres de 51 años).

La prevalencia por edad y sexo de las coinfecciones de Hepatitis C,HIV y Treponema pallidum fue superior en los hombres (158,66,123) que en las mujeres (71,10,56) a excepción en el HIV que el rango de edad es más joven en mujeres.

Número: 036

**PREVALENCIA DE LOS GENOTIPOS DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C**

Autor/a/s: María José Muño Andrade. María Luisa Fafián Ares

Centro de trabajo: Complejo Hospitalario Universitario A Coruña

Localidad: A Coruña

Correo electrónico del primer firmante: ramalleiran25@yahoo.es

**INTRODUCCIÓN:**

El virus de la hepatitis C (VHC) es una de las principales causas de la hepatitis crónica, enfermedad hepática terminal y carcinoma hepatocelular en el mundo. Suele ser asintomática.

La gran variabilidad genómica del VHC se traduce en seis genotipos (1-6) y múltiples subtipos (a,b,c). Este estudio es indispensable antes de iniciar el tratamiento ya que la duración y la posibilidad de respuesta al tratamiento están relacionadas con el resultado del genotipo. No es necesario repetirlo ya que no sufre variaciones a lo largo del tiempo.

El genotipo del VHC es uno de los factores determinantes en el pronóstico y en la respuesta al tratamiento de la infección crónica por el VHC.

En occidente, las infecciones más frecuentes son causadas por el genotipo 1, seguidas por el 2 y el 3. Los genotipos 4 y 5 se dan casi de forma exclusiva en el continente africano, y el genotipo 6 se observa con mayor frecuencia en el suroeste asiático.

**OBJETIVO:**

El objetivo de este estudio es determinar la prevalencia de los diferentes genotipos del VHC, así como las unidades peticionarias más demandantes en el área sanitaria de A Coruña, en el período 2011-2013

**MATERIALES Y MÉTODOS:**

Cobas-Amplipre (Roche) } Extracción del VHC

GeneAmp. PCR System 9700 } Genotipado amplificación VHC

Autolipa 48 (Inmunogenetic) } Genotipado detección VHC

**RESULTADOS:**

El criterio de selección para el estudio fue seleccionar pacientes confirmados como positivos para la infección crónica del VHC en el período 2011-2013. Determinándose en dicho trienio un total de 711 genotipos.

AÑOS	GENOTIPOS				TOTAL AÑO	UNIDADES PETICIONARIAS			
	1	2	3	4		Medicina Interna	Digestivo	Penitenciario	Otras unidades
2011	115	12	44	26	197	91	75	13	18
2012	204	14	67	33	318	218	73	16	11
2013	116	13	38	29	196	78	44	8	66
TOTAL GENOTIPOS	435	39	149	88	711	387	192	37	95

**CONCLUSIONES:**

Las infecciones más frecuentes son causadas por el genotipo 1 seguidas del 3,4 y 2, no habiéndose detectado ningún genotipo 5 y 6. Las unidades peticionarias más demandantes son las de medicina interna seguida de digestivo y penitenciario. Y el resto están repartidas entre diferentes unidades (drogodependencia, unidad de trasplantes, infecciosas, pediatría, hematología, etc.).

Número: 037

**EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN DE HEMOCULTIVOS DURANTE EL AÑO 2013 EN EL ÁREA SANITARIA SUR DE SEVILLA**

Autor/a/s: ISNARD CARO LEONARDO JESÚS, MORALES GALAN PILAR, LOPEZ SANCHEZ MANUEL, MORILLA ROLDÁN LOLA, ALLER GARCIA ANA ISABEL, MARTÍN-MAZUELOS ESTRELLA

Centro de trabajo: HOSPITAL DE VALME

## INTRODUCCIÓN:

El hemocultivo es un método diagnóstico que se realiza para la detección de microorganismos en la sangre. El principal problema para la interpretación correcta de los hemocultivos es su contaminación con la flora microbiana cutánea. Un indicador de calidad en la recogida de hemocultivo es la baja tasa de contaminación durante su extracción.

## OBJETIVOS:

Los objetivos de este estudio son determinar la tasa de contaminación de hemocultivos remitidos a nuestro hospital en el año 2013 y el principal microorganismo contaminante.

## MATERIALES Y MÉTODOS:

En nuestro hospital, los hemocultivos se procesan según, protocolo normalizado de trabajo (PNT) mediante el sistema automatizado (BACTEC 9240) de Becton Dickinson. Para la preparación de la piel y la extracción de la muestra se siguieron las normas recogidas en el protocolo para la extracción de hemocultivos de la Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología. Las botellas se incuban durante 5-7 días antes de ser descartadas como negativas.

Se revisaron los microorganismos aislados de los hemocultivos positivos en el año 2013, en el laboratorio de microbiología y se consideraron contaminantes aquellos que forman parte de la piel como *Estafilococo coagulasa* negativo, *Corynebacterium* spp, *Bacillus* spp, *Streptococcus* del grupo viridans, *Propionibacterium* spp y *Micrococcus* spp.

## RESULTADOS:

Durante el año del estudio se procesaron 8628 hemocultivos de los cuales 1151 fueron positivos (13,3%), negativos 6962 (80,7%) y muestras contaminadas 513 (5,9%).

Los principales microorganismos contaminantes son *Estafilococos coagulasa* negativo 422 (4,9%), *Corynebacterium* spp 24 (0,3%), *Bacillus* spp 22 (0,3%), *Streptococcus* del grupo viridans 22 (0,3%), *Propionibacterium* spp 20 (0,2%) y *Micrococcus* spp 5 (0,1%).

El rango de contaminación oscila entre 14,4% y 2,5%, el servicio que presentó un índice más alto de contaminación fue pediatría con un (14,4%) seguido de cirugía digestiva con un (8,9%). Los servicios que presentaron menos contaminaciones fueron neonatología con (2,9%) seguido de enfermedades infecciosas y microbiología clínica con un (2,5%).

Respecto a la etiología de las contaminaciones de los hemocultivos, no se observa diferencia entre los distintos servicios.

La Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica establece que con una técnica aséptica correcta el número de hemocultivos contaminados no debe acceder del 3% aunque otras organizaciones admiten hasta un 5%. En cualquier caso el índice de contaminación global de nuestro hospital está por encima de estos límites.

## CONCLUSIONES:

- 1- La tasa global de contaminación de los hemocultivos en nuestro hospital fue del 5,9%.
- 2- El principal microorganismo contaminante fue *Estafilococo coagulasa* negativo.
- 3- Sería necesario realizar medidas correctoras para disminuir la tasa de contaminación.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 040

## DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES FÚNGICAS MEDIANTE LA AMPLIFICACIÓN DE LA REGIÓN ITS 2. UTILIDAD DE LA PCR PANFÚNGICA EN EL DIAGNÓSTICO

Autor/a/s: López Villanueva, Miriam, Esteban, Cristina, Puig de la Bellacasa, Jorge

Centro de trabajo: Hospital Clínic i Provincial de Barcelona

Localidad: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: milovi@gmail.com

## INTRODUCCIÓN:

En los últimos años se han desarrollado nuevos métodos para la detección e identificación precoz de los agentes causantes de infecciones fúngicas. Entre estos métodos están los basados en técnicas de biología molecular. En la práctica clínica estas técnicas pueden ser muy útiles como complemento de las técnicas convencionales de diagnóstico como el examen microscópico y los cultivos en medios específicos porque acortan el tiempo del diagnóstico.

## OBJETIVOS:

Comprobar la utilidad de una PCR panfúngica para detectar e identificar tanto levaduras como hongos filamentosos a partir de cultivos y de muestras primarias. La aplicación de técnicas diagnósticas de identificación molecular permitirá iniciar un tratamiento específico de forma precoz, lo que debería tener implicaciones pronósticas.

## MATERIALES Y MÉTODOS:

Durante el periodo comprendido entre julio de 2012 y diciembre de 2013, se obtuvieron 173 amplificaciones e identificaciones. 144 fueron de cepas aisladas en cultivo de muestras respiratorias (esputo, aspirado traqueal, broncoaspirado, líquido pleural y lavado broncoalveolar), de biopsia cutánea y de mucosa, piel y uñas. En las 29 restantes el resultado se obtuvo directamente a partir de la muestra: esputo, broncoaspirado, lavado broncoalveolar y biopsias de piel y mucosas.

Extracción de ADN. Se realizó un tratamiento previo a la extracción en función de las características de la muestra de ADN: las muestras respiratorias viscosas se trataron con acetilcisteína en solución salina, mientras que los lavados broncoalveolares se concentraron por centrifugación. Todas las muestras se sometieron a una agitación enérgica (30" a 5000 rpm sistema Minilys) con arena de vidrio y tampón de lisis. Posteriormente se realizó la extracción de ADN con el sistema automático EZ1 de Qiagen.

Amplificación de ADN. Se basó en el artículo publicado por Turenne y col. (Rapid Identification of Fungi by Using the ITS2 Genetic Region and an Automated Fluorescent Capillary Electrophoresis System, JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, June 1999). Se utilizaron los cebadores ITS86 e ITS4 para la amplificación de la región ITS2, que está comprendida entre las regiones 5.8S y 28S del ADN ribosomal. La amplificación se realizó con el termociclador SmartCycler empleando Sybergreen para detectar el producto amplificado.

Secuenciación. La identificación a nivel de género y especie se realizó mediante secuenciación del producto de RCP (BigDye de AppliedBiosystem) y comparación de las secuencias con las depositadas en la base pública de datos GenBank.

## RESULTADOS:

De las 173 determinaciones, en 160 se identificaron hongos filamentosos (92,4%), en 11 levaduras (6,3%), y en dos casos *P. jiroveci* (1,1%).

Los hongos filamentosos identificados fueron:

44 dermatofitos (27,5%): 22 *Trichophyton rubrum*, 4 *T. mentagrophytes*, 9 *T. interdigitale*, 1 *Epidermophyton floccosum*, 3 *Microsporum gypseum* y 2 *Trichophyton* spp;

82 *Aspergillus* spp (51,2%): 45 *A. fumigatus*, 5 *A. niger*, 9 *A. flavus*, 6 *A. terreus*, 2 *A. versicolor*, 2 *A. lentulus*, 1 *A. nidulans*, 3 *A. nomius*, 2 *A. tamarii*, y 5 *Aspergillus* spp;

2 mucorales (1,2%) se identificaron: 1 *Rhizopus oryzae* y 1 *R. microsporus*;

34 especies (21,2%) fueron identificadas como: 3 *Trichoderma longibrachiatum*, 3 *Alternaria* spp, 3 *Scedosporium apiospermum*, 5 *Paecilomyces lilacinus*, 3 *Arthrinium phaeospermum*, 3 *Fusarium oxysporum*, 2 *Cladosporium sphaerospermum*, 1 *Phoma* spp, 1 *Verticillium dahliae*, 1 *Ochroconis* spp, 3 *Chaetonium* spp, 1 *Pleosporales* spp, 3 *Acremonium* spp, 1 *Cladophiala boppii*, 1 *Penicillium rubens* y 1 *Histoplasma capsulatum*.

Las levaduras identificadas fueron 9 especies de *Candida* spp (81,8%): 2 *C. parapsilosis*, 4 *C. albicans* y 3 *C. glabrata*; 1 *Trichosporon* spp y 1 *Malassezia furfur*.

## CONCLUSIONES Y COMENTARIOS:

La metodología descrita permite detectar e identificar múltiples especies fúngicas, obteniendo los resultados en un tiempo total de 8h, frente a los 4 días-2 semanas que puede llegar a requerir la identificación morfológica según los géneros. Su utilidad ha quedado demostrada para la aplicación a partir de cultivos y en muestras clínicas. El empleo de esta metodología es muy útil en un laboratorio de microbiología clínica porque permite adelantar el diagnóstico, especialmente en el caso de los dermatofitos, mucorales y en especies de crecimiento lento o difíciles de cultivar.

**ESTUDIO COMPARATIVO DE MÉTODOS DE DIAGNOSTICO E IDENTIFICACIÓN PARA HAEMOPHYLUS INFLUENZAE**

*Autor/a/s: DE CABO MORALES M<sup>a</sup> JOSEFA, CONCEJO IZQUIERDO XIOMARA MARIA, CUADRADO BENITO M<sup>a</sup> TERESA, BLAZQUEZ MATEOS M<sup>a</sup> ISABEL, INGELMO VEROZ M<sup>a</sup> JOSE*

*Centro de trabajo: (HOSPITAL CLINICO UNIVERSITARIO DE SALAMANCA)*

*Localidad: (SALAMANCA)*

*Correo electrónico del primer firmante: majoca63@hotmail.com*

**INTRODUCCIÓN:**

Haemophilus influenzae es un patógeno respiratorio. Coco bacilo Gram -, no móvil, generalmente aerobio, aunque también puede crecer como anaerobio facultativo.

Es responsable de enfermedades como: meningitis, epiglotitis, neumonía, sepsis y otras de menor gravedad. Hay dos categorías principales: Cepas con capsula (Tipo B) y sin ella. Las cepas tipo B son más virulentas porque resisten la fagocitosis y la lisis en los huéspedes no inmunizados. Las cepas no encapsuladas son menos invasivas.

El diagnóstico clínico típicamente es realizado por cultivos en placas de agar, de preferencia "agar chocolate" con adición de bacitracina (300 µg/ml) a 37° C con atmósfera de CO<sub>2</sub> enriquecido (5%).

Las colonias son convexas, lisas, pálidas, grises o transparentes. Son catalasa y oxidasa +.

El tratamiento es antibiótico utilizando cefalosporinas de tercera generación.

**OBJETIVO:**

Identificación de H. influenzae por dos métodos: Siembra disco-placa colocando discos de factores (FACTORES) y espectrometría de masas (MALDI-TOF) en Hospital Universitario de Salamanca, comparándolos entre sí.

**MATERIALES Y MÉTODOS:**

Se realizó cultivo selectivo para Haemophilus (agar chocolate) a todas las muestras de esputo, aspirados y lavados bronquiales recibidas en el departamento de microbiología en el periodo comprendido entre marzo 2013 y enero 2014 (un total de 11 meses). De todas ellas, tan solo en 117 muestras se obtuvo crecimiento de la bacteria H. influenzae.

La identificación de las colonias sospechosas se realizó mediante:

Método 1 — Los tradicionales factores — Realizando una siembra disco-placa y poniendo 3 discos impregnados con factores X (hemina), V (NAD), X+V. Incubando 24 horas a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub> enriquecido.

Se considera positivo para H. influenzae si existe un halo de crecimiento alrededor del disco X+V. Se basa este método en la necesidad de esta bacteria de requerir ambos factores para su crecimiento.

Método 2 — Espectrometría de masa (MALDI-TOF) — Tenemos una identificación en mas o menos media hora.

**RESULTADOS:**

Realizado el diagnóstico de los 117 cultivos positivos, observamos que MALDI-TOF identificó 115 como H. influenzae, y 2 no los identificó como tal. La realizada por el método de los factores identificó 100 como H. influenzae y 17 no se pudieron identificar, esta técnica reportó un porcentaje de un 85% de positividad y un 15% de negatividad. Mientras que la espectrometría de masas, reportó un porcentaje del 98,3% de positividad y un 1,7% de negatividad.

**CONCLUSIONES:**

En el presente estudio, según los resultados obtenidos, la espectrometría de masas, ha resultado ser una técnica fiable y más rápida para el diagnóstico e identificación de H. influenzae, que la de los típicos factores, con la cual, habría que esperar 24 horas para poder realizar un prueba de sensibilidad a antibióticos (antibiograma).

**DETECCION DE SARAMPION POST VACUNAL**

*Autor/a/s: Nieves Felisa Martinez Cameo, Isabel Gonzalez Rios, Pilar Hernandez Garcia, Alejandra Vasquez Martinez, Manuel Omeñaca Teres*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario Miguel Servet,*

*Localidad: Zaragoza*

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

**INTRODUCCIÓN:**

La vacuna triple vírica se introdujo en el calendario de vacunación infantil de Aragón en 1984 con una

primera dosis a la edad de 15 meses, adelantándose a los 12 meses a partir del año 2011. La vacuna es segura y eficaz y

no suele tener efectos secundarios, siendo estos, cuando se producen, muy leves como fiebre o erupción. La aparición de

casos de sarampión tras la administración de la vacuna aunque no es frecuente, está descrito en la literatura. Los síntomas

del sarampión vacunal pueden ser diferentes al cuadro clínico clásico.

**OBJETIVO:**

Describir los aspectos clínicos, serológicos, detección molecular y genotipado de los casos de sarampión vacunal

detectados en el Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza desde 1995 a 2013.

**MATERIALES Y MÉTODOS:**

Se utilizó la definición de caso de sarampión vacunal de la Red Española de Vigilancia

Epidemiológica: exantema, con antecedente de vacunación en las 6 semanas previas, IgM positiva y detección del genotipo vacunal del virus. Se recogieron de los casos muestras de sangre, orina y exudado faríngeo en los medios adecuados.

La detección de IgM específica frente a sarampión se realizó por técnica ELISA (Enzygnost® Siemens Healthcare).

Las muestras de exudado faríngeo y orina se cultivaron en células vero, ampliándose el estudio, a partir del año 2011, con una PCR múltiple anidada con transcripción reversa, según el protocolo desarrollado en el Centro Nacional de Microbiología para sarampión, rubéola y parvovirus B19. Las variables recogidas fueron sexo, edad, fecha de vacunación, sintomatología, inicio de síntomas y antecedentes epidemiológicos.

**RESULTADOS:**

Se detectaron 7 casos (4 hombres, 3 mujeres), de 15 meses de edad y que habían recibido una dosis de vacuna, con un tiempo medio entre vacunación e inicio de los síntomas de 11,5 días. Los siete casos presentaron fiebre, exantema y al menos uno de los siguientes síntomas: tos, conjuntivitis, eritema faríngeo y diarrea. Cuatro precisaron hospitalización y evolucionaron favorablemente. La distribución en el tiempo fue: 1 en 2001, 1 en 2003, 2 en 2006, 2 en 2011 y 1 en 2013. En los cuatro primeros casos el virus se detectó por cultivo y los 3 últimos por PCR, todos ellos con genotipo A (vacunal). En cuatro casos se realizó IgM siendo tres de ellos positiva para sarampión.

**CONCLUSIONES:**

Ante la presencia de un caso sospechoso es preciso descartar la posibilidad de un sarampión vacunal, ya que de ser así, no serán necesarias las medidas de control de la transmisión. Sin antecedentes epidemiológicos de exposición a una fuente, es improbable que se trate de una infección natural, por lo que ante un caso positivo (IgM y PCR) hay que valorar el antecedente de vacunación previa, siendo imprescindible la caracterización molecular para el diagnóstico y la notificación a los Servicios de Vigilancia Epidemiológica

**INCIDENCIA DE GASTROENTERITIS AGUDA POR AEROMONAS HIDROPHILA.**

*Autor/a/s: García Vela, Jose Herminio y Franco Alvarez de Luna, Francisco*

*Centro de trabajo: Hospital de Riotinto*

*Localidad: Minas de Riotinto*

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

## RESUMEN:

La incidencia de *Aeromonas* spp. en la Gastroenteritis Aguda (GEA), ha experimentado un incremento en los últimos años en nuestra Área Sanitaria. El papel enteropatógeno de esta bacteria es controvertido, pues a pesar de que *A. hydrophyla* está considerada una bacteria patógena, los científicos no han sido capaces de demostrar que sea la causa real de algunas de las enfermedades con que está asociada. Se cree que contribuye a la infección de estas enfermedades, pero que no las causa ella misma.

En el presente trabajo exponemos la prevalencia de *Aeromonas* spp. como agente etiológico de la GEA en el Área de Gestión Sanitaria Norte de Huelva (AGSNH) en un periodo que abarca los años 2012/2013.

## INTRODUCCIÓN:

*Aeromonas* es una bacteria con forma de bacilo, Gram-negativa, anaerobia facultativa que morfológicamente se asemeja a los miembros de la familia *Enterobacteriaceae*. Se han descrito catorce especies de *Aeromonas*, la mayoría de las cuales han sido asociadas con enfermedades humanas. Estos organismos son ubicuos en el agua dulce y salobre. Las dos principales enfermedades asociadas con *Aeromonas* son la gastroenteritis y las infecciones de heridas, con o sin bacteriemia. La gastroenteritis generalmente se produce por la ingestión de agua o de alimentos contaminados, mientras que las infecciones de heridas son el resultado de la exposición al agua contaminada. La enfermedad gastrointestinal en niños, por lo general, es una enfermedad aguda grave, mientras que en los adultos tiende a ser una diarrea crónica. La gastroenteritis severa se asemeja a la shigelosis, con sangre y leucocitos en las heces. La enfermedad diarreica aguda es en sí misma limitada, por lo que sólo es necesario atención de apoyo a los pacientes afectados.

## MATERIALES Y MÉTODOS:

Se trata de un estudio descriptivo retrospectivo desde el 1 de enero de 2012 al 31 de diciembre de 2013. Las muestras de heces recibidas, se procesaron según los protocolos normalizados de trabajo habituales en nuestro Laboratorio, para el procesamiento de coprocultivos. Los medios de cultivo fueron incubados a 37°C, durante 18 horas. Las colonias sospechosas de *Aeromonas* spp. que eran aisladas en Agar Yersinia (YER, Biomerieux®), fueron reaisladas en Agar Sangre (COS, Biomerieux®). A ambos aislamientos se les realizó la prueba de la oxidasa, resultado positiva (muy rápida) en las colonias aisladas en el Agar Sangre y oxidasa negativa, en las colonias aisladas en el Agar Yersinia. Una vez realizada una identificación presuntiva del microorganismo, se realizó panel de identificación y antibiograma (NUC53), mediante el sistema semi-automatizado (Microscan®, Siemens).

## RESULTADOS:

*Aeromonas hydrophyla* fue aislada en el 12% (9) de las 511 muestras de heces de pacientes enviadas durante el periodo de estudio al Servicio de Microbiología. Existió una clara distribución estacional de los episodios, concentrándose en los meses de verano y otoño (junio a noviembre) con el 55,55 % de los episodios. El resto de aislamientos se distribuyen en el mes de marzo donde tenemos dos casos (22,22%), en mayo 1 (11,11%) y en diciembre 1(11,11%). Todas las cepas de *Aeromonas hydrophyla* mostraron sensibilidad disminuida y resistencia a amoxicilina/clavulánico. Sin embargo todas las cepas fueron sensibles a las quinolonas y al cotrimoxazol (antimicrobianos empleados en el tratamiento de la enteritis por este microorganismo).

## DISCUSIÓN:

Aunque las *Aeromonas* crecen en los medios utilizados para la identificación de otros enteropatógenos (Agar MacConkey), su morfología coliforme y el carácter lactosa positivo de hasta un 30% de las cepas, plantean una dificultad añadida para distinguir las de otras bacterias aisladas en muestras fecales.

Una buena alternativa es el medio Agar yersinia, descrito inicialmente para el aislamiento de *Y. enterocolitica* de heces, pero en el que crecen ambos géneros bacterianos, *Yersinia* y *Aeromonas*. Este medio en su fórmula original permite el crecimiento de la mayoría de las especies y, en algunos estudios, consigue un incremento del 35% en las tasas de aislamiento.

No está muy claro su papel enteropatógeno por lo que es recomendable indicar a los clínicos que existen cepas que no se comportan como tales. Los expertos, no obstante, recomiendan monitorizar de forma habitual la presencia de este agente por su incidencia especialmente entre los menores.

Aunque el medio de Agar Sangre no es excesivamente selectivo, en nuestro Laboratorio nos ha indicado con la presencia de hemólisis y su prueba de oxidasa positiva un claro indicador de presencia de este germen.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 071

## PREVALENCIA DE COLONIZACIÓN E INFECCIÓN DE STREPTOCOCCUS AGALACTIAE EN GESTANTES Y FENOTIPOS DE RESISTENCIA A MACRÓLIDOS Y LINCOSAMIDAS.

Autor/a/s: García Vela, Jose Herminio y Franco Alvarez de Luna, Francisco

Centro de trabajo: Hospital de Riotinto

Localidad: Minas de Riotinto

Correo electrónico del primer firmante: jhgvela@yahoo.es

## INTRODUCCIÓN/OBJETIVOS:

*Streptococcus agalactiae* (EGB) es el agente etiológico más prevalente de enfermedad invasiva en el recién nacido (sepsis, neumonía y meningitis), además de tener un papel importante en fiebres puerperales e infecciones del tracto urinario.

Los objetivos del estudio son, el conocer la prevalencia de infección y/o colonización por EGB, en las mujeres gestantes de nuestra Área Sanitaria y conocer su resistencia a macrólidos y lincosamidas, como alternativas de tratamiento en los pacientes alérgicos a la penicilina.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se trata de un estudio descriptivo, de carácter retrospectivo desde enero hasta diciembre de 2013. En este periodo, se procesaron 501 muestras de orina de mujeres gestantes y 599 exudados vagino-rectales.

Las muestras de orina de gestantes recibidas, y las muestras de exudado vagino-rectal, fueron inoculadas en el medio de Agar Granada (Biomedics, Soria Melguizo). Las placas se incubaron en anaerobiosis a 37°C. La lectura se realizó a las 18 y 24 horas de incubación.

La identificación de los aislamientos, se realizó por métodos bioquímicos y serológicos convencionales, a partir de colonias con morfología característica, beta-hemólisis en agar sangre, y pigmentación característica en medio Granada. En los casos dudosos, se demostró la presencia de antígeno capsular de tipo B (Slidex® Strepto. kit plus, Biomerieux®).

La determinación de los fenotipos de resistencia a macrólidos, se realizó mediante el test de inducción con discos de eritromicina (15 mg) y clindamicina (2 mg) separados 20 mm entre sí, en medio de Mueller-Hinton sangre.

## RESULTADOS:

Durante el periodo de nuestro estudio (enero de 2013 hasta diciembre de 2013) se aislaron un total de 116 cepas de EGB, 79 (13,19%) en muestras de exudado vagino-rectal y 37 (7,38%) cepas de EGB en muestras de orina. Se realizó estudio de sensibilidad a 56 aislamientos de EGB (46 procedentes de exudado vagino-rectal y 10 de orina).

De las 56 cepas a las que se les realizó estudio de sensibilidad, 13 (23%) fueron resistentes a eritromicina y 14 (25%) a clindamicina. Todas las cepas resistentes a eritromicina, presentaron el fenotipo MLSB constitutivo.

Tipo de muestra	N	Sensibles (%)	Resistentes (%)	Fenotipo M	Fenotipo MLSBc	Fenotipo MLSBi
Exudado vagino-rectal	46	38 (82,6)	8 (17,4)	0	8	0
Orina	10	5 (50)	5 (50)	0	5	0

## CONCLUSIONES:

La prevalencia de colonización e infección por EGB en nuestra Área Sanitaria fue del 10.54%.

La tasa de resistencia a macrólidos de *S. agalactiae* aislados de muestras de orina y exudado vagino-rectal de mujeres gestantes fue del (23,21%). El Fenotipo de resistencia predominante es el fenotipo MLSBc, no detectándose los Fenotipos M y Fenotipos MLSBi.

No se ha producido ninguna sepsis neonatal precoz en nuestra Área Sanitaria, por lo que podemos concluir que el protocolo adoptado ha sido efectivo y aceptable para reducir las sepsis neonatal precoz por EGB.

### EVOLUCIÓN DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS DE UREAPLASMA UREALYTICUM EN EL PERIODO 2008 AL 2013 EN EL ÁREA DE GESTIÓN SANITARIA NORTE DE HUELVA.

Autor/a/s: *García Vela, Jose Herminio y Franco Alvarez de Luna, Francisco*

Centro de trabajo: *Hospital de Riotinto*

Localidad: *Minas de Riotinto (Huelva)*

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

#### INTRODUCCIÓN:

Ureaplasma urealyticum es una bacteria que forma parte de la flora saprofita genital habitual. La colonización por Ureaplasma spp. en el varón oscila entre el 3-56%, mientras que en la mujer, la colonización por Ureaplasma spp. oscila entre el 8,5-77% (siendo especialmente elevada durante el embarazo).

Se relaciona con infecciones del tracto genitourinario (uretritis no gonocócica (UNG), vaginosis bacteriana (VB), cervicitis o enfermedad pélvica inflamatoria), infecciones materno-fetales (coriamnionitis, aborto espontáneo o parto pretérmino), e infecciones neonatales (enfermedad pulmonar del neonato).

El objetivo de nuestro trabajo, es el conocer la prevalencia de infección por Ureaplasma spp. en las muestras de líquido seminal y conocer la resistencia a los antimicrobianos empleados en su tratamiento.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se trata de un estudio descriptivo, de carácter retrospectivo durante los años 2008 a 2013. Se analizan todas las muestras de líquido seminal, de la población objetivo de nuestro estudio: pacientes que acuden a la consulta de Urología con síntomas de prostatitis, epididimitis, así como los que refieren contactos sexuales de riesgo. Además todos aquellos pacientes que acuden a la Consulta de Ginecología, para estudios de fertilidad. La edad de los pacientes estuvo comprendida entre los 18 y los 58 años, con una media de 40 años.

Se procesaron un total de 1300 muestras de líquido seminal, según los protocolos normalizados de trabajo habituales del laboratorio de Microbiología. Para la detección de los Mycoplasmas y Ureaplasmas en las muestras de líquido seminal, se empleó el Sistema Comercial, Mycoplasma IST2 de BioMérieux®, que nos permitió su detección, identificación y cuantificación orientativa; así como el estudio de sensibilidad a los antimicrobianos habitualmente empleados en su tratamiento. Este sistema, consiste en una galería a modo de micropocillos que contienen los nutrientes y antimicrobianos necesarios para el análisis. Su lectura, se fundamenta en el cambio de color del medio de cultivo, tras el crecimiento de los microorganismos.

#### RESULTADOS:

Se detectó Ureaplasma urealyticum en el 15,84 % (206) de las muestras de líquido seminal.

El 99% de los aislamientos fue sensible a la azitromicina y el 98% lo fue a la doxiciclina.

Destacar que la resistencia en el grupo de las quinolonas fue del 43% para la ciprofloxacino y del 15% para la ofloxacino.

TABLA1.

#### CONCLUSIONES:

La prevalencia de infección por Ureaplasma urealyticum y su resistencia a los antimicrobianos testados, son similares a los ya publicados, en otras zonas de nuestro país. A lo largo de estos años se ha mantenido la sensibilidad a los antimicrobianos de elección para el tratamiento de las infecciones genitourinarias (azitromicina y doxiciclina) con una sensibilidad que ronda el 99% de las cepas aisladas.

El sistema Mycoplasma IST BioMérieux®, permite la detección de Ureaplasma spp. y M. hominis con un resultado cuantitativo y el estudio de la sensibilidad, a lo que contribuye el uso combinado del caldo Urea-Arginina. En nuestro Centro donde no contamos con técnicas moleculares de detección, podemos concluir que es un buen método para la identificación y estudio de la sensibilidad en muestras de líquido seminal.

### HIDATIDOSIS

Autor/a/s: *Ruiz Pérez María José, Duro Olivas Yolanda, Algar Romero Ana Isabel.*

Centro de trabajo: *Hospital de Ubeda*

Localidad: *Jaen*

Correo electrónico del primer firmante: *cotton.2000@hotmail.com*

#### INTRODUCCIÓN:

'La hidatidosis es una grave enfermedad que el perro puede transmitir al hombre, dando lugar a quistes hidatídicos de gran tamaño en hígado y pulmón

OBJETIVO: Detección por la determinación cuantitativa de anticuerpos séricos dirigidos contra echinococcus granulosus por hemoaglutinación indirecta.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

La técnica de análisis en el laboratorio se basa en el principio de hemoaglutinación indirecta, con una duración de 2 horas. La presencia de anticuerpos anti-Echinococcus granulosus séricos entraña una aglutinación de los hematíes sensibilizados que se traduce en un velo rojo/marrón que tapiza la cúpula. En ausencia de anticuerpos específicos, estos hematíes se sedimentan en el fondo de la cúpula bajo la forma de un anillo. La reacción se efectúa en microplaca con fondo U.

#### RESULTADOS:

Estudio realizado en el Laboratorio de Serología del H. San Juan de la Cruz de Úbeda durante un año, sobre 34 pacientes, siendo positivos 7 casos de diferentes títulos y el resto negativos.

#### CONCLUSIONES:

Debido al gran número de personas propietarias de perros, cada vez tiene mayor incidencia la Hidatidosis sobre los pacientes, por lo que se hace necesario la difusión de la técnica de análisis para su detección en las primeras fases de desarrollo de la enfermedad.

### ACTIVIDAD DE CEFTAROLINA FRENTE A STAPHYLOCOCCUS AUREUS AISLADOS A PARTIR DE MUESTRAS DE PIEL Y TEJIDOS BLANDOS

Autor/a/s: *Morales Galán Pilar, García López Jose Luis, Martín Mazuelos Estrella.*

Centro de trabajo: *Hospital de Valme*

Localidad: *Sevilla*

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

#### RESUMEN:

Actividad de ceftarolina frente a Staphylococcus aureus aislados a partir de muestras de piel y tejidos blandos.

#### INTRODUCCIÓN:

Ceftarolina es una cefalosporina de amplio espectro que el Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) describe como subclase de cefalosporina con actividad frente a Staphylococcus aureus resistente a meticilina debido a la gran afinidad que presenta por la PBP2a, además conserva una actividad frente a bacilos Gram negativos similar a ceftriaxona. Con el fin de conocer la actividad de este nuevo antimicrobiano frente a las cepas de S aureus presentes en nuestro medio nos hemos planteado el siguiente trabajo.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Hemos estudiado la actividad de ceftarolina frente a 59 cepas de S aureus aisladas a partir de muestras procedentes de infecciones de piel y tejidos blandos. Dieciocho de estas cepas eran sensibles a meticilina y 31 eran resistentes. El estudio de la sensibilidad se realizó mediante tiras de plástico con gradiente de concentración antibiótica ( OXOID) y se aplicaron los criterios de CLSI para su evaluación. Se determinan las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI). Puntos de corte: Sensible CMI <= 1 ml/l, Intermedio CMI = 2 ml/l y Resistente >= 4 mg/l.

**RESULTADOS:**

Los resultados obtenidos se presentan en la siguiente tabla en número de cepas y porcentajes acumulados.

Tabla 1: Sensibilidad a ceftarolina, expresada en valores de CMI acumulada (% cepas) así como en valores de CMI50 y CMI90

CMI (n)	0.25		0.5		1		CMI50	CMI90
	n	% acumulado	n	% acumulado	n	% acumulado		
SASM (18)	13	72.2	4	94.4	1	100	0.25	0.5
SARM (31)	2	6.5	14	51.6	15	100	0.5	1

SASM: S aureus sensible a metilicina. SARM: S aureus resistente a metilicina. (n): número de cepas aisladas

**CONCLUSIONES:**

1.- Todas las cepas estudiadas fueron sensibles a ceftarolina. 2.- Las cepas sensibles a metilicina mostraron valores de CMI más bajos a ceftarolina que las cepas resistentes

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 098

### UTILIDAD DE UNA PCR A TIEMPO REAL CASERA PARA AYUDA EN EL DIAGNOSTICO Y SEGUIMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN LA CONSULTA DE ENFERMEDADES IMPORTADAS.

Autor/a/s: Sánchez Álvarez, Antonio; Pérez Pinar, Carmen; Mérida del Caño, María Dolores; López Bueno, María Josefa; García García, Fernando; Chueca Porcuna, Natalia.

Centro de trabajo: Hospital Clínico San Cecilio, Servicio de Microbiología

Localidad: Granada

Correo electrónico del primer firmante: josantsanchez@hotmail.com

**INTRODUCCIÓN:**

Trypanosoma cruzi es el protozoo causante de la enfermedad de Chagas. El diagnóstico de esta patología es difícil, ya que tanto las técnicas parasitológicas como las inmunológicas presentan sus limitaciones, tanto en la fase aguda como en la fase crónica de la enfermedad. Las técnicas moleculares se presentarían como una prometedora alternativa, pero estas aún deben ser evaluadas y mejoradas. El objetivo de este trabajo fue desarrollar y valorar en nuestro laboratorio la eficacia de una PCR a tiempo real casera, tanto para el diagnóstico como para el seguimiento en las diferentes fases de la enfermedad.

**MÉTODOS:**

Se atendieron en la consulta de enfermedades importadas a 64 pacientes en un total de 204 visitas. La edad media fue de 33.67 años, 36 mujeres (56.3%) y 28 hombres (43.8%). El país de origen más frecuente fue Bolivia (33, 51.6%), seguido de Senegal (10, 15.6%), España (5, 7.8%). Entre los inmigrantes el diagnóstico más frecuente fue Enfermedad de Chagas Crónica (21 casos, 2 con afectación cardíaca), seguido de strongiloidiosis (16 casos) y tuberculosis latente (11 casos). Se utilizaron las pruebas inmunológicas ELISA y IC para la obtención de datos serológicos y como ensayo molecular se escogen como dianas para la amplificación el ADN de minicirculo de cinetoplasto y ADN satélite de T. cruzi.

**RESULTADOS:**

Todos los pacientes con sospecha de enfermedad de Chagas presentaron técnicas inmunológicas positivas para las dos técnicas estudiadas. Se obtiene una concordancia del 100% en los resultados cuando se contrasta nuestra PCR casera con las pruebas de los laboratorios de referencia (ISCIII). Hemos obtenido un 11% de resultados positivos de las muestras de pacientes en fase crónica. De los casos de sospecha de Chagas en fase aguda (recién nacidos) no hemos obtenido ningún resultado positivo por PCR aunque presentaban serología positiva. Ninguna de las muestras de los individuos sanos resultó positiva por ninguna de las técnicas.

Conclusión

Se obtienen resultados de concordancia elevados con pruebas de los laboratorios de referencia. La eficacia diagnóstica de las técnicas moleculares aun se mantiene baja, al menos en la fase crónica de la enfermedad.

Número: 099

### DIFERENCIAS CUANTITATIVAS DE CUASIESPECIES VIRALES PRESENTES EN LOS PACIENTES PRIMOINFECTADOS FRENTE A NAIVES MEDIANTE SECUENCIACIÓN MASIVA DE GENOMAS ÚNICOS

Autor/a/s: Mérida del Caño, María Dolores; Sánchez Álvarez, Antonio; Pérez Pinar, Carmen; López Bueno, María Josefa; Chueca Porcuna, Natalia.

Hospital Clínico San Cecilio, Servicio de Microbiología, Granada.

Centro de trabajo: Hospital Clínico San Cecilio, Servicio de Microbiología

Localidad: Granada.

Correo electrónico del primer firmante: mdmdca.69@gmail.com

**INTRODUCCIÓN:**

En la primo infección por VIH-1 se ha postulado que una sola cepa conocida como "fundadora" es la que finalmente instaura la infección, todas las demás cuasiespecies irán emergiendo de esta cepa fundadora tras la presión inmune y farmacológica a la que se someterá el virus. Con las nuevas tecnologías de secuenciación masiva podemos cuantificar cada una de las cuasiespecies de VIH-1 circulantes en plasma de los pacientes infectados tanto en primo infección como naives de duración desconocida.

**OBJETIVO:**

Comprobar si en los pacientes primo infectados se encuentra una sola cepa fundadora y/o determinar el número de cuasiespecies virales encontradas en pacientes primo infectados y en naives amplificando y pirosecuenciando 4 regiones del gen pol.

**PACIENTES Y MÉTODOS:**

Se estudian muestras de plasma de 10 pacientes primo infectados [contacto de riesgo (10/10) y/o seroconversión de Acp24 (3/10) y/o presencia de Agp24 (9/10) y/o serología VIH negativa previa (2/10)] y 16 pacientes naives de duración desconocida. Se amplifican 4 regiones del gen pol; proteasa entera (RTP-A: 183-465nt) y la RT en tres fragmentos (RTP-B: 414-714nt, RTP-C: 623-939nt, RTP-D: 897-1206nt). Los amplificados posteriormente se cuantifican y purifican para poder secuenciar un pool de  $2 \times 10^6$  moléculas en un secuenciador GS Junior. Las secuencias se analizan utilizando Amplicon Variant Analyzer (AVA). La mayor/menor variabilidad se mide calculando el porcentaje de la secuencia única mayoritaria.

**RESULTADOS:**

Se ha obtenido una mediana de 8924 secuencias por paciente (RIQ= 6036-10140). La mediana de la carga viral de los pacientes naives fue de 143186 c/ml y de los primo infectados de 507000 copias/ml. La variabilidad observada para las 4 regiones de pol para pacientes naives es: región RTP-A de 24.55 (RIQ= 16.4-37.2), región RTP-B de 33.03 (RIQ=11,36-39,5), RTP-C de 23.57 (RIQ=13,4-36,6), RTP-D de 27.3 (RIQ=12,59-41,18). En los pacientes primo infectados la mediana de porcentaje de secuencia única es para RTP-A: 80.04 (RIQ=73-85,47), RTP-B; 79.36 (RIQ=70,7-84,66), RTP-C; 72.37 (RIQ=66,09-79,68) y para RTP-D: 75.45 (RIQ=68,9-79,55). Las diferencias entre grupos han sido estadísticamente significativas para todos los fragmentos analizados ( $P < 0,0002$ )

Conclusiones: Los porcentajes altos de secuencia única se encuentran en todos los casos de primo infección. Con las técnicas de secuenciación masiva se puede poner de manifiesto el "microviroma" de VIH-1 de los pacientes.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 100

### EVALUACIÓN DE LA DETERMINACIÓN DE RESISTENCIAS GENOTÍPICAS DE VIH-1 EN MUESTRAS CON CARGA VIRAL INFERIOR A 1000 COPIAS/ML.

Autor/a/s: Pérez Pinar, Carmen; Mérida del Caño, María Dolores; Sánchez Álvarez, Antonio; López Bueno, María Josefa; Álvarez Estévez, Marta.

Centro de trabajo: Hospital Clínico San Cecilio, Servicio de Microbiología

Localidad: Granada

Correo electrónico del primer firmante: yomellamocarmen@gmail.com

## OBJETIVO:

Las guías clínicas recomiendan realizar el estudio de resistencias frente a anti-retrovirales cuando la carga viral supere las 1000 cp/ml, sin embargo metodológicamente es posible realizarla con valores inferiores. Nuestro objetivo ha sido evaluar la rentabilidad de la determinación de resistencias en pacientes con carga viral <1000 cp/ml.

## PACIENTES Y MÉTODOS:

Se realizó el estudio genotípico de mutaciones por secuenciación empleando el sistema de Trugene HIV-1 (Siemens), valorándose las mutaciones de la International Aids Society (IAS). La interpretación de resistencias se realiza con el algoritmo de Stanford. Al ser muestras con carga viral inferior a 1000 cp/ml se realiza una concentración previa a partir de 2500 µL de muestra. La determinación de la carga viral se realiza con el sistema Taqman HIV v2.0 Roche Assay. Se analizan 256 muestras de pacientes VIH-1 en el período 2011- junio 2013, cuya carga viral se encontraba entre 50 y 1000 copias/ml.

## RESULTADOS:

El 11.8% de las muestras analizadas son subtipos no-B. La mediana de carga viral fue de 200 cp/mL [IQR: 112.25-362.75]. Del total de las muestras analizadas se consigue amplificar 227 muestras (88.7%). Cuando realizamos un análisis más detallado por intervalos de carga viral (desde <100 hasta >700, registrando intervalos de 100 copias entre cada grupo) observamos una distribución homogénea que varía desde un 83.33% al 100% de éxito en la amplificación. El 28.6% de las secuencias analizadas tenían alguna mutación en la RT, siendo la K103N (15.9%) las más abundante, seguida de M184VI (9.3%), M41L (6.6%), D67N (6.2%), T215YF (4.8%) y K219EQ (4.8%). En la proteasa el 94.72% de las secuencias tenían alguna mutación del listado del IAS, siendo la L63P la más abundante con un 48.5%, seguida de la M36ILV (34.4%) y I64LMV (31.4%). El porcentaje de pacientes con virus con mutaciones de resistencia en los distintos intervalos de carga viral no presenta diferencias.

## CONCLUSIONES:

La rentabilidad de la secuenciación empleando un método de concentración previo de la muestra cuando la carga viral es inferior a 1000 es muy buena. En todos los estratos de carga viral por debajo de 1000 se detectan mutaciones que podrían guiar un futuro cambio terapéutico.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 102**

## COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN PARA LEVADURAS

*Autor/a/s: Isabel Dolores Vázquez Barba, M. Aránzazu Gandía González, Encarnación Hermosín Guardado, José Antonio Lepe Jiménez y Maite Ruiz Pérez de Pipaón*

*Centro de trabajo: H. U. Virgen del Rocío, Sevilla*

*Localidad: Sevilla*

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

## INTRODUCCIÓN:

Las infecciones fúngicas por hongos levaduriformes han aumentado en los últimos años especialmente en pacientes inmunodeprimidos. Para establecer el tratamiento adecuado es necesario conocer en el menor tiempo posible la identificación a nivel de especie. Actualmente con los métodos disponibles en el laboratorio esta identificación se obtiene entre 2-4 días. Con la espectrofotometría de masas (MALDI-TOF) introducida en la rutina clínica el tiempo de identificación podría ser acortado. El objetivo de este trabajo es comparar la identificación convencional frente a la identificación mediante perfiles proteicos por espectrometría de masas (MALDI-TOF).

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Estudio de 200 aislamientos clínicos de levaduras procedentes de distintas muestras (sangre, orina, aspirados bronquiales, etc). Estudio convencional: placas cromogénicas CAND brilliance candida (Oxoid) y API ID 32 C (Biomerieux). Estudio MALDI-TOF: identificación de perfiles proteicos con extracción con ácido fórmico en espectrómetro de masas Microflex (Bruker).

## RESULTADOS:

Con métodos convencionales se obtuvo la identificación de los 200 aislamientos, con la siguiente distribución:

- Hongos levaduriformes habituales: 97 C. albicans, 13 C. glabrata, 8 C. krusei, 28 C. parapsilosis y 32 C. tropicalis.

- Hongos levaduriformes no habituales: 1 C. dublinensis, 4 C. guillemontii, 1 C. intermedia, 3 C. kefyri, 3 C. lusitanae, 3 C. neoformans, 1 C. zeylanoides, 1 C. magnusiomyces capitatus, 3 R. mucilaginosa y 2 Trichosporon spp.

Con metodología MALDI-TOF:

- Hongos levaduriformes habituales: 88 C. albicans (score medio de 1.834), 8 no identificaciones y 1 discordancia, 13 C. glabrata (score medio 1.849), 8 C. krusei (score medio de 2.165), 28 C. parapsilosis (score medio 1.918), 32 C. tropicalis (score medio 1.905), y 2 no identificaciones.

- Hongos levaduriformes no habituales: 1 C. dublinensis, 4 C. guillemontii, 1 C. intermedia, 3 C. kefyri, 3 C. lusitanae, 3 C. neoformans, 1 C. zeylanoides, 1 C. magnusiomyces capitatus, 3 R. mucilaginosa y 1 Trichosporon spp.

La correlación entre métodos convencionales y MALDI-TOF fue superior al 90%.

## CONCLUSIONES:

El uso del sistema MALDI-TOF (matrix-assisted laser desorption/ionisation time-off-flight) permite acortar en forma significativa los tiempos de identificación, con una buena concordancia frente a los métodos de identificación convencionales y disminuye los altos costes involucrados, tanto del uso de reactivos como del tiempo de procesamiento por parte de los profesionales.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 103**

## DIFERENCIACIÓN DE ESPECIES DEL COMPLEJO STREPTOCOCCUS BOVIS/EQUINUS POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE MASAS MALDI-TOF

*Autor/a/s: M. Aránzazu Gandía González, Isabel Dolores Vázquez Barba y Encarnación Hermosín Guardado*

*Centro de trabajo: H. U. Virgen del Rocío, Sevilla*

*Localidad: Sevilla*

*Correo electrónico del primer firmante: agandia21@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).

## CONCLUSIONES:

El sistema MALDI-TOF MS (MicroFlex Bruker) es un sistema rápido y confiable para la caracterización de especies dentro del complejo Streptococcus bovis/equinus y podría sustituir a los sistemas fenotípicos clásicos para la caracterización de rutina.

### OTITIS MEDIA TUBERCULOSA

*Autor/a/s: SUAREZ SANTANA DOLORES, MONZÓN MARTÍN SANTIAGO, ARTILES HERNANDEZ ANA, GILARRANZ LUENGO RAUL, SANTANA MUÑOZ MARIA DEL PINO, VELAZQUEZ MIRANDA DOLORES*

*Centro de trabajo: H.U.G.C. DOCTOR NEGRIN*

*Localidad: LAS PALMAS DE G.C.*

*Correo electrónico del primer firmante: lolisu71@hotmail.com*

#### OBJETIVOS:

Estudiar las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes diagnosticados de otitis media tuberculosa (OMT) en nuestro hospital entre enero de 1998 y diciembre de 2012.

#### PACIENTES Y MÉTODOS

\* Se revisaron retrospectivamente las historias clínicas de los pacientes con aislamiento del complejo M. tuberculosis (MTUC) en muestras de oído medio procedentes del Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín y del Hospital Materno Infantil.

\* Las muestras se descontaminaron con N-acetil cisterna-NaOH al 1%. Se realizó examen directo mediante tinción de Ziehl-Neelsen y/o auramina y cultivo en medio líquido (Bactec MGIT 960, BD) y sólido (Lowenstein-Jensen).

\* En casos de alta sospecha de tuberculosis se realizó técnica de amplificación genética del complejo M. tuberculosis (AMTD2 BioMerieux-GenProbe o BD Probetec ET, BD).

\* La identificación del complejo M. tuberculosis se llevo a cabo mediante hibridación de ácidos nucleicos (Accuprobe system Biomerieux) o detección del antígeno MPT64 por inmunocromatografía (BD).

\* La sensibilidad a fármacos antituberculosos (isoniazida, rifampicina, estreptomycin y etambutol) se realizaron con el sistema Bactec MGIT (BD).

#### RESULTADOS:

\* En el periodo del estudio se diagnosticaron tres pacientes con OMT lo que representó el 0,39% de todas las formas de tuberculosis y el 2,61% de las extrapulmonares.

\* La OMT se manifestó en los tres casos como otitis media crónica unilateral y se presentó con otorrea refractaria a tratamiento convencional.

\* En todos los pacientes el diagnóstico inicial fue de colesteatoma por lo que fueron intervenidos quirúrgicamente y uno de ellos reintervenido por dehiscencia quirúrgica.

#### CONCLUSIONES:

\* La OMT es muy infrecuente en nuestra área.

\* Para el diagnóstico temprano es importante mantener un alto nivel de sospecha en pacientes con otorrea crónica que no responde a tratamiento convencional, especialmente en presencia de parálisis del nervio facial o hipoacusia.

\* El diagnóstico definitivo requiere habitualmente toma de biopsias para estudio histológico y microbiológico debido al solapamiento de síntomas y signos clínicos con otros procesos como el colesteatoma.

### INFECCIONES NEUROLOGICAS NEONATALES POR ENTEROVIRUS

*Autor/a/s: SANTIAGO L. MONZON MARTIN , DOLORES J. SUAREZ SANTANA, ANA ARTILES HERNANDEZ, LAURA IGLESIAS, ROSA MARIA GUERRA ROGER, DUNIA MONTESDEOCA MOLINA*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIV. DOCTOR NEGRIN LAS PALMAS*

*Localidad: LAS PALMAS*

*Correo electrónico del primer firmante: smonzonmartin@icloud.com*

#### INTRODUCCIÓN:

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. El objetivo del estudio fue conocer la distribución de serotipos de las infecciones neurológicas neonatales producidas por EV.

#### PACIENTES Y MÉTODOS

Estudio de los casos de infección neurológica por EV en neonatos diagnosticados en el periodo 2007-2012 en el hospital Materno infantil de Las Palmas. En el protocolo de evaluación del neonato con fiebre se realiza la toma de muestra de líquido cefalorraquídeo (L.C.R). En todos los pacientes con L.C.R. con más de 10 células / microl y/o proteínas mayor de 45 mg/dl se realizó la detección genómica de EV y cultivo viral y si el L.C.R. no fue patológico se procesaron sólo para cultivo. EL genotipado se realizó mediante secuenciación de la región VP1. Se revisaron las historias clínicas de todos los pacientes.

#### RESULTADO:

Se incluyeron 28 neonatos, 15 menores de 15 días. Todos los neonatos fueron a término con una edad gestacional media de 39.7 semanas. Se pudieron genotipar 20 de los 28 EV detectados, resultando 5 Echovirus, 4 coxsackievirus, 4 E-30, 2 CV-B5, 2 CV-B3, 2 E-4, Y 1 CV-A9.

Todos los pacientes recibieron tratamiento antibiótico durante una media de 5.8 días (rango 2-10).

#### CONCLUSIONES:

La incidencia de infección por enterovirus en neonatos fue baja. Respecto a la prevalencia de serotipos, a diferencia de lo que ocurre en otras edades, pero en concordancia con estudios previos, E-11 y CV-B son los más frecuentemente detectados en neonatos. Destacar que no hubo casos en prematuros, en donde estas infecciones podrían ser más graves.

### PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN ACTIVA POR TREPONEMA PALLIDUM Y ESPECIFICIDAD DE LA PRUEBAS DE EIA PARA SU DIAGNÓSTICO

*Autor/a/s: Fernandez Cuesta Manuel, Egido Andrés María Teresa, Rico Naya Ana María, Blanco del Pozo Manuela.*

*Centro de trabajo: Hospital Clinico Salamanca*

*Localidad: Salamanca*

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

#### INTRODUCCIÓN:

Tras unos años de declive, la prevalencia de las Infecciones de Transmisión Sexual (ITS) tiende al alza, por lo que su diagnóstico está recobrando importancia. El diagnóstico de la sífilis se ha realizado a partir de la detección de Anticuerpos no específicos (reagínicos) mediante métodos de cribado (RPR, VDRL), y posterior confirmación mediante la detección de Anticuerpos. específicos (treponémicos) por distintas técnicas (FTA-Abs, TPHA, etc). Esta metodología deriva de la sencillez técnica, alta sensibilidad y baja especificidad de las pruebas reagínicas, obligando a su confirmación con otros métodos, y de la complejidad técnica de las pruebas treponémicas, que desaconseja su realización de forma primaria en todos los pacientes en que se solicita un estudio de infección por T. pallidum. La aparición de técnicas de inmunoensayo automatizadas que detectan anticuerpos treponémicos, ha permitido modificar el algoritmo de actuación y estudiar de manera primaria la presencia de anticuerpos treponémicos específicos como prueba de cribado. Los sueros positivos, se confirman mediante RPR y, si este es negativo, mediante pruebas confirmatorias específicas.

#### OBJETIVOS:

El presente estudio tiene como objeto conocer la evolución de la prevalencia de sífilis activas entre Enero de 2011 y Febrero de 2014, así como la especificidad de las pruebas treponémicas.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se estudiaron sueros procedentes de 694 pacientes que habían resultado positivos en la determinación de anticuerpos específicos frente a T.pallidum mediante EIA (EIATP) entre Enero del 2011 y Febrero del 2014. Los sueros se estudiaron mediante EIATP (Abbott Architect Syphilis TP assay, Abbott Laboratories o Syphilis Screening Immulite 2000, Siemens Healthcare). En los EIATP positivos, se

estudió la presencia de anticuerpos no treponémicos mediante RPR, para confirmar la existencia de una sífilis activa. Las muestras RPR (-), pero con valores claramente positivos en EIATP ( $\geq 4$  x valor de corte) se consideraron positivas para anticuerpos treponémicos. Las muestras RPR (-), con valores en EIATP  $< 4$  x el valor de corte, se confirmaron mediante EIA lineal.

#### RESULTADOS:

De los 694 sueros positivos para EIATP, 340 (49%) fueron también RPR (+), confirmándose como sífilis activas. 90 casos correspondían a 2011, 90 a 2012, 142 a 2013 y 18 a mes y medio de 2014 (extrapolación a 12 meses: 144 casos), lo que confirma la tendencia al alza. De los 354 sueros RPR (-), 228 (64,4%) mostraron cifras altas de EIATP, por lo que se consideraron positivos. De los 126 sueros RPR (-) y con cifras de EIATP  $< 4$  x punto de corte, 45 se confirmaron como positivos (36,6%), 55 fueron confirmatorio (-) (44,7%) y en 26 el resultado de éste fue indeterminado (18,7%). En conjunto, la especificidad del EIATP fue del 91,8%. No obstante, en muestras con valores positivos bajos, la especificidad no llega al 50%.

#### CONCLUSIONES:

El EIATP ha supuesto un cambio radical en el protocolo diagnóstico de sífilis. Los resultados de este estudio muestran una especificidad global del 91,8%, que se reduce aún más en pruebas con valores positivos bajos, en lo que es por tanto obligada una prueba confirmatoria. La solvencia de InnoLIA Syphilis como prueba confirmatoria es también mejorable, ya que en cerca del 20% de los EIATP positivos con cifras bajas tampoco fue determinante.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 109**

### INCIDENCIA Y PERFIL DE RESISTENCIAS DE LOS AISLAMIENTOS DE LEVADURAS EN ORINA.

*Autor/a/s: INMACULADA CONCEPCIÓN SAMPEDRO DE LA TORRE, MARIA DEL CARMEN LIÉBANA MARTOS, MARIA FE BAUTISTA MARÍN, MARIA DOLORES VALERA ARCAS, JOSÉ GUTIÉRREZ FERNÁNDEZ*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES*

*Localidad: GRANADA*

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

#### INTRODUCCIÓN:

El aislamiento de levaduras en orina se da en aproximadamente un 5% de los urocultivos. La candiduria no siempre es indicativa de infección urinaria, pero en determinados pacientes, puede ser un signo de una candidiasis diseminada, especialmente en casos de *Candida* spp. La especie de levadura principalmente aislada es *Candida albicans*. Sin embargo se ha observado cada vez más la presencia de otras especies de *Candida* spp. que en ocasiones pueden presentar resistencia a los antifúngicos habitualmente utilizados.

#### OBJETIVO:

El objetivo de este trabajo es describir la incidencia de candiduria en nuestro laboratorio y analizar el perfil de resistencia frente a antifúngicos.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se analizaron de forma retrospectiva los aislamientos de levaduras obtenidos en orina en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada durante el periodo comprendido entre enero de 2010 a diciembre de 2013. También se analizaron las tasas de sensibilidad frente a antifúngicos (anfotericina B, caspofungina, flucitosina, fluconazol y micafungina) en el caso de que se realizara antifungigrama.

#### RESULTADOS:

De 2010 a 2013 se obtuvieron 612 aislamientos de *Candida* spp. De ellos 372 (60,8%) correspondieron a *Candida albicans* y 240 (39,2%) a otras especies de *Candida*. Las especies de *Candida* no *albicans* se distribuyeron de la siguiente forma: *Candida* spp. 65,8%; *C. glabrata* 12,5%; *C. tropicalis* 12,1%; *C. parapsilosis* 5,4%; *C. lusitaniae* 1,7%; *C. famata* 1,2%; *C. krusei* 0,8% y *C. kefir* 0,4%.

En los casos en los que se realizó antifungigrama la especie más resistente a antifúngicos fue *C. glabrata*, en la que un 25% de las cepas testadas fueron resistentes a caspofungina, un 4,5% intermedias a anfotericina B, 16% intermedias a fluconazol y 4,2% resistentes a este antifúngico. *C. tropicalis* resultó resistente a

fluconazol en un 4,2% de los casos ensayados. *C. krusei* que es intrínsecamente resistente a fluconazol, también resultó resistente a flucitosina en todos los casos. En el caso de *C. albicans*, entre las cepas testadas sólo se encontró una cepa resistente a flucitosina (2,6%).

#### CONCLUSIONES:

En nuestro estudio no se encontraron niveles de resistencia a antifúngicos elevados entre las especies de *Candida* aisladas en orina, sin embargo el porcentaje de especies de *Candida* no *albicans* supone casi un 40% del total de las candidurias, por lo que es necesaria la identificación de la especie y la realización de antifungigrama en el caso de especies con porcentajes de resistencia más elevados.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 112**

### INFECCIÓN DE TRANSMISIÓN SEXUAL PRODUCIDA POR NEISSERIA GONORRHOEA EN EL HOSPITAL VIRGEN DE LA VICTORIA DE MÁLAGA.

*Autor/a/s: Guerrero Crespillo Ángela María, Márquez Salazar Rafael, Moya Moreno María Teresa*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen de la Victoria de Málaga*

*Localidad: Málaga*

*Correo electrónico del primer firmante: aguecres75@gmail.com*

#### INTRODUCCIÓN:

La *Neisseria gonorrhoeae* (gonococo) es un diplococo gram negativo, oxidasa positivo, que causa la gonococia, es una infección de transmisión sexual que se presenta en los humanos. Los microorganismos se visualizan al microscopio de luz como diplococos intracelulares, dentro de los neutrófilos. Esta apariencia contribuye a la identificación de la infección por gonococo. Son bacterias frágiles y de crecimiento lento.

#### OBJETIVOS:

Conocer la incidencia de infección de transmisión sexual en nuestro medio así como la resistencia producida por *Neisseria gonorrhoeae* durante el año 2013 en el Hospital Virgen de la Victoria de Málaga.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

El estudio se realiza en el hospital Virgen de la Victoria de Málaga durante el año 2013. Las muestras recibidas en el laboratorio son de procedencia intrahospitalaria y extrahospitalaria, para el estudio de gonococo se realiza de forma rutinaria al semen, uretrales y endocervicales el cultivo según protocolo de la mesa de trabajo. Solamente a las muestras vaginales se les añadía la placa de Martin Lewis a las que se les veía abundantes leucocitos en el fresco o expresamente se solicitaba la placa utilizada para ello. Para el estudio de sensibilidad de *Neisseria gonorrhoeae* se realiza en agar chocolate con una turbidez de 0,5 Mac Farland un antibiograma con los siguientes discos: penicilina, ciprofloxacino, levofloxacino, cefotaxima y tetraciclina. Como factor epidemiológico estudiamos la edad y el sexo.

#### RESULTADOS:

Se realizó estudio en 1031 muestras para identificación de *Neisseria gonorrhoeae*, siendo positivas 35 muestras (3%) y 1005 negativas (97%). Del total de las muestras positivas 3 muestras vaginales (8,5%) y 32 muestras uretrales (91,5%). El total de las muestras que llegaron correspondía a 308 muestras de semen (30%), 266 muestras de vaginales (26%), 431 muestras uretrales (42%) y 26 endocervicales (2%). Desglosamos las edades de los pacientes y obtuvimos cuatro grupos: El primer grupo con menores de 20 años llegaron 4 muestras, en el segundo grupo de 20 a 30 años llegaron 15 muestras, en el tercer grupo de 25 a 35 años llegaron 20 muestras y por último en el grupo de 30 años 15 muestras. La incidencia de infección por transmisión sexual por *Neisseria gonorrhoeae* en nuestro medio es de 7,70% por cada 100.000 habitantes siendo la población atendida de 455.000 habitantes.

#### CONCLUSIONES:

1. La mayor incidencia por infección de *Neisseria gonorrhoeae* en nuestro medio es de (91,5%) con edades comprendidas de 25 a 35 años.
2. El mayor porcentaje de muestras recibidas correspondió a muestras uretrales (42%).

### INFECCIÓN COMUNITARIA POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS METICILIN RESISTENTE

Autor/a/s: Márquez Salazar, Rafael. González Rosa, Manuel. Guerrero Crespillo, Ángela María

Centro de trabajo: HOSPITAL VIRGEN DE LA VICTORIA

Localidad: MÁLAGA

Correo electrónico del primer firmante: rafamarquez-s@hotmail.es

#### INTRODUCCIÓN:

Varón de 41 años, sin antecedentes hospitalarios recientes, acude 7 días antes de ingresar en nuestro hospital a su centro de salud por presentar dolor ocular izquierdo, acompañado de inflamación del ala nasal izquierda, se pauta azitromicina, diclofenato y paracetamol. Ante el empeoramiento del cuadro y la presencia de fiebre, escalofríos y astenia, tres días después, acude a urgencias y se le diagnostica dacriocistitis aguda y celulitis; se cambia la pauta antibiótica a levofloxacino y al acudir al día siguiente se le diagnostica de dacriocistitis aguda del OI y añade al tratamiento pomada de eritromicina. Al día siguiente y ante el empeoramiento, el paciente ingresa en nuestro hospital, ante la presencia de fiebre, cefalea, dolor ocular con tumefacción inflamatoria y foliculitis abscesificada, colapso nasal izquierdo, edema y rinorrea. Se diagnostica de foliculitis, celulitis y sinusitis aguda, ingresando al paciente se realiza Rx y TAC craneal y toma de muestras de las lesiones nasales y hemocultivos.

#### OBJETIVOS:

Detectar las infecciones por Staphylococcus aureus comunitario PCR para Mec A y Panton-Valentain. (PVL) positivos, frente a infecciones por Staphylococcus aureus nosocomial.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Los hemocultivos recibidos en nuestro laboratorio son introducidos en el BACT/ALERT 3D, con un período de incubación de 5 días, y una vez positivos, se le realiza la siembra según protocolo habitual de la sección de Hemocultivos.

Para la identificación y sensibilidad utilizamos el sistema automatizado Walk-Away (Siemens), utilizando los paneles Pc 31 y PCR para Mec A y Panton-Valentain. (PVL).

#### RESULTADOS:

Una vez positivizados los frascos de hemocultivos, se le realiza un pase a placas. Transcurridas 24h, las placas tanto de agar sangre como agar chocolate presentan crecimiento de colonias amarillentas.

Con la tinción de Gram, observamos cocos gram positivos en grupos.

Son catalasa y coagulasa positivas

El sistema automatizado Walk-Away (Siemens), nos identificó esta cepa como Staphylococcus aureus presentando sensibilidad frente a todos los antibióticos excepto a la eritromicina y cloxacilina que presentó resistencia, y positiva la PCR para Mec A y PVL.

Al paciente se le trató con vancomicina, dándole el alta a las pocas semanas.

#### CONCLUSIONES:

Es importante detectar las infecciones por Staphylococcus aureus comunitario, ya que estos suelen ser más agresivos y resistentes a los antibióticos que el resto, pues no sólo presentan resistencia a cloxacilina, sino que llevan la PVL que produce infecciones más graves y agresivas.

### ENFERMEDAD DE CHAGAS. PREVALENCIA EN GESTANTES EN UNA ZONA NO ENDÉMICA.

Autor/a/s: MOYA MORENO, MARIA TERESA. GUERRERO CRESPILO, ÁNGELA MARÍA. GONZÁLEZ ROSA, MANUEL. TORRES CARRILLO, FRANCISCA MARÍA. CLAVIJO FRUTOS, ENCARNACIÓN

Centro de trabajo: HOSPITAL VIRGEN DE LA VICTORIA

#### INTRODUCCIÓN:

La inmigración y los movimientos poblacionales han introducido en nuestra área geográfica nuevas patologías, tales como la enfermedad de Chagas. Enfermedad parasitaria endémica en América Latina causada por el protozoo Tripanosoma cruzi.

El vehículo del parásito conocido como vinchuca, es un Triatoma. Vive en las grietas de las paredes y tejados de las viviendas de adobe, propias de las zonas rurales y barrios pobres de las ciudades de Latinoamérica.

La vinchuca deposita el parásito al defecar en el momento de la picadura y al frotarse se favorece la introducción del parásito.

En los países no endémicos, la vía transplacentaria es la vía de transmisión que tiene más importancia; las transfusiones de sangre contaminada y los trasplantes de órganos, hoy en día son dos mecanismos controlados en nuestro país.

#### OBJETIVOS:

Analizar la seroprevalencia de T.cruzi y la situación inmunológica frente a T.pallidum, Rubeola y Toxoplasma gondii en gestantes procedentes de zonas endémicas en nuestra área sanitaria durante los años 2012-2013, diagnosticadas en el Hospital Universitario Virgen de la Victoria de Málaga que atiende a 455.000 habitantes.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

El estudio ha incluido todas las muestras remitidas a nuestro servicio para screening de la embarazada latinoamericana, consistente en la detección de anticuerpos IgG, mediante test de Elisa; T.pallidum (Vircell), Rubeola (Siemens), Toxoplasma gondii (Siemens) y T. cruzi (Cellabs) en mujeres con edades entre 17-40 años. En los casos positivos hemos analizado la variable edad y si existe coinfección por Treponema pallidum o tiene anticuerpos frente a Rubeola y Toxoplasma gondii.

#### RESULTADOS:

De las 182 muestras remitidas en el bienio 2012-2013 fueron positivas 33 (18´13%). Realizándose a todas las muestras positivas, la detección de anticuerpos frente a Toxoplasma IgG 15 (45´45%), Rubeola IgG 32 (96´97%) y coinfección por T.pallidum (IgG + IgM) 1 (3%).

#### CONCLUSIONES:

El número de positivos frente a T. cruzi fue (18´13%) en las gestantes latinoamericanas estudiadas en nuestro hospital. Los casos se concentraron en mujeres de 27-35 años, estando justificado el estudio a todas las gestantes procedentes de los países endémicos.

La inmunización frente a Rubeola es correcta, y el porcentaje de pacientes positivas frente a toxoplasma es mayor al que encontramos en la población autóctona.

El conocer a las gestantes seropositivas nos permite prevenir y controlar la infección en el embarazo en países no endémicos, representando un nuevo reto para el sistema de salud público de nuestro entorno.

### INCIDENCIA DE PALUDISMO EN INMIGRANTES PROCEDENTES DE ZONAS ENDEMICAS EN HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES DE GRANADA

Autor/a/s: PUERTAS RODRIGUEZ, ARACELI ; VALERA ARCAS, MARIA DOLORES

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES

Localidad: GRANADA

Correo electrónico del primer firmante: araceli Puertas@hotmail.com

#### INTRODUCCIÓN:

Una de las enfermedades parasitarias más importante, no solo por su frecuencia sino por su gravedad, es el paludismo. Muchos inmigrantes que llegan a España tienen enfermedad compatible con paludismo y la mayoría de los establecidos en España que viajan a sus países de origen no realizan una profilaxis adecuada o creen que no es necesaria por haber estado enfermos previamente. Todo esto hace que la malaria sea una enfermedad presente en los Servicios de Urgencia de los Hospitales.

## OBJETIVOS:

Conocer el impacto que los estudios parasitológicos de malaria han tenido en el Hospital Universitario Virgen de las Nieves durante un periodo de 8 años.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realizó un estudio retrospectivo de los informes emitidos entre enero del 2005 y noviembre del 2013 por el Laboratorio de Microbiología y Parasitología, así como los siguientes datos extraídos de la historia clínica de los parasitados: edad, sexo, país de sospecha para la adquisición de la infección, tratamiento recibido y necesidad de transfusiones de hemáties o ingreso en UCI. La muestra analizada fue sangre con EDTA. El estudio parasitológico incluyó: 1) Examen de microscópico (1000X) de 4 extendidos sanguíneos teñidos con tinción panóptica rápida ; y 2) Estudio de antígenos de Plasmodium (específico Plasmodium falciparum y común a todas las especies). Cuando hubo un resultado discordante entre las anteriores o el antígeno común a las especies estuvo presente se realizó la investigación de ADN para caracterización de especie, mediante envío de la sangre al laboratorio del Centro Nacional de Microbiología (Majadahonda, Madrid).

## RESULTADOS:

Se realizaron un total de 130 estudios, que resultaron ser positivos en 19 casos (14,6%): 14 adultos (12 hombres y 2 mujeres) y 5 niños (2 niños y 3 niñas). La distribución acumulada anual de las muestras positivas fue : En el año 2005, 1 muestra que representa el 5,26%, en el 2010 fueron 3 muestra que representan en el 15,78% del total, en 2011 fueron 4 muestras que representan el 21,05%, en 2012 fueron 8 muestras que representan 42,10% y en 2013 fueron 3 muestras representando el 15,78%. De las 19 positivas, 12 de ellas lo fueron mediante observación microscópica de extensiones de sangre, donde se encontraron formas compatibles de Plasmodium falciparum en 10 casos, y detección antigénica de Plasmodium Falciparum en 15 casos. El estudio de ADN se realizó en 7 pacientes resultando ser positivo. Necesitaron ser hospitalizados 12 pacientes (63%) y 3 de ellos en UCI. Las transfusiones de hemáties se realizaron en 3 pacientes (15,75%). Los tratamientos se realizaron con Atovuona- Proguanil, Mefloquina, Quinina, Primaquina, Artemeter, Lumefantina, Hidroartemisinina, y Artesonato. Los países donde se adquirieron la enfermedad fueron : Guinea Ecuatorial (5 casos), Senegal (7 casos), Mali (1 caso), Nigeria (1 caso ), Ghana (1 caso) y en 4 casos no constó el país.

## CONCLUSIONES:

La prueba de detección de antígeno se ha mostrado útil para los estudios de paludismo en nuestro medio.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 121**

### INFLUENCIA DEL CEPILLADO DENTAL EN LA COLONIZACIÓN DEL HELICOBACTER PYLORI. ESTUDIO MEDIANTE LA DETECCIÓN DE IG A Y LA PRUEBA DEL ALIENTO

*Autor/a/s: López Cobos, Francisca; Espigares Gallardo, María de los Ángeles; Liébana Cabanillas, Francisco; Gallego Vilchez, Juana*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario San Cecilio*

*Localidad: Granada*

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

## INTRODUCCIÓN:

El reservorio extragástrico principal de Helicobacter pylori (Hp) parece ser la cavidad bucal. Este hecho es avalado porque determinados estudios señalan que un buen control de la salud oral determina una disminución de las colonizaciones por Hp (1). Otros trabajos cuestionan la relación salud oral-infecciones por Hp y si las medidas higiénicas a nivel oral disminuye la colonización por Hp (2).

## OBJETIVOS:

Valorar la influencia del cepillado dental en la colonización-infección por Hp y la concordancia entre el test del aliento y la determinación de IgA.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se estudia un grupo de 38 estudiantes de la Facultad de Odontología de la Universidad de Granada con edades comprendidas entre 23-24 años que se cepillaban los dientes más de una vez al día. Se utilizaron dos métodos como pruebas diagnósticas: Test del aliento (UBTest de Otsuka Pharmaceutical S.A. Ref 918615) y

detección de la IgA específica (Biolisa Helicobacter IgA Biokit SA.ref.30000-1142). Como prueba estadística se empleó el test Chi-cuadrado y para el estudio de la concordancia el índice de Kappa.

## RESULTADOS:

El índice de Kappa muestra un valor de 0,8850 lo que indica una buena concordancia. Los resultados obtenidos en cuanto a colonización por Hp se observan en la siguiente figura:

	MAS DE UN CEPILLADO DENTAL AL DÍA	
	NEGATIVOS	POSITIVOS
TEST DEL ALIENTO *	28	10
DETECCIÓN DE LA IG A **	27	11

\*p=0'03 \*\* p=0'04

## CONCLUSIONES:

1º: La detección de IgA puede ser una alternativa al test del aliento para evaluar la colonización de Hp.

2º: El cepillado dental más de una vez al día muestra significación estadística con el test del aliento y la determinación de IgA en el sentido de un mayor número de negatividades sobre positividades en el estudio de Hp.

## BIBLIOGRAFÍA:

1º .Bago I y cols.The effectiveness of systemic eradication therapy against oral helicobacter pylori. J.Oral.Pathology and Medicine:40,428-32.2011.

2º Navabi N y cols. Does the presence of the Helicobacter pylori in the dental plaque associate with its gastric infection? A meta-analysis and systematic review. Dent.Res.J;4,178-82,2011.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 122**

### INCIDENCIA DE AISLAMIENTOS EN COPROCULTIVOS DE CAMPYLOBACTER SPP. EN EL SECTOR II DE ZARAGOZA

*Autor/a/s: URCIA ROZAS CARLOTA; TRASOBARES GRACIA MARIA PILAR; GUERRERO BLANCO ARACELI, MARTINEZ CAMEO NIEVES FELISA, VASQUEZ MARTINEZ MARIA ALEJANDRA*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO MIGUEL SERVET*

*Localidad: ZARAGOZA*

*Correo electrónico del primer firmante: cur80@hotmail.com*

## INTRODUCCIÓN:

La campylobacteriosis es una zoonosis de distribución mundial. El Campylobacter se halla habitualmente como comensal del tracto gastrointestinal de algunos mamíferos silvestres o domésticos y toda variedad de aves de corral. Muchos de los casos de enteritis humana han sido asociados al contacto con animales, agua contaminada o alimentos de origen animal.

El genero Campylobacter pertenece a la Familia Campylobacteriaceae. Y contiene 22 especies, entre ellos Campylobacter jejuni subsp. jejuni, C. coli, C. lari y C. upsaliensis, son los microorganismos más frecuentes aislados hasta el momento con repercusión clínica. Morfológicamente son bacilos gramnegativos, delgados curvos en forma de espiral de 0,2 a 0,9 mm de diámetro, móviles, no esporulados y no fermentadores. La mayoría son microaerófilos y termófilos, con crecimiento a una temperatura entre 37 a 43 °C.

C. jejuni y C. coli son las especies más comunes asociadas a enfermedad diarreica y clínicamente son indistinguibles, de ahí su importancia en la buena identificación microbiológica.

## OBJETIVO:

El objetivo de este estudio es analizar la incidencia de Campylobacter en muestras de heces durante el periodo comprendido entre 2011 y 2013 en el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza, así como su distribución según sexo, edad y periodo estacional.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Estudio descriptivo y retrospectivo de los aislamientos de Campylobacter en muestras de heces durante el periodo 2011 y 2013.

Las heces se sembraron en agar CCDA y se incubaron con una atmósfera microaerofílica que se logra con sobres generadores de gases especiales para *Campylobacter* (Oxoid) a una temperatura de 42°. Con posterior realización de lectura a las 24 y 48 horas.

Cuando se observan colonias pequeñas (1 mm), redondas, ligeramente elevadas, lisas y traslúcidas, se procede a la identificación con hidrólisis de hipurato, catalasa, y desde el año 2012 la identificación de las colonias sospechosas se les realiza por espectrometría de masas MALDI-TOF (Maldi Biotiper, Brucker).

#### RESULTADOS:

Durante el periodo comprendido entre los años 2011 y 2013 se procesaron un total de 62.086 coprocultivos de los cuales 1.269 (2%) fueron positivos para *Campylobacter*. La distribución por sexo y edad de los aislamientos se refleja en la siguiente tabla:

	ADULTOS	PEDIÁTRICOS	VARONES	MUJERES
<i>C. jejuni</i>	228 (20.4%)	890 (79.6%)	588 (53%)	530 (47%)
<i>C. coli</i>	41 (31%)	91 (69%)	72 (55%)	60 (45%)
<i>Campylobacter</i> spp	5 (30%)	12 (70%)	7 (41%)	10 (59%)

La distribución según el periodo estacional se observó:

	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Sep-tiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
2011	25	22	32	26	31	35	25	19	33	24	23	28
2012	23	29	26	20	34	28	18	18	32	35	29	30
2013	38	36	46	32	72	69	54	54	44	55	62	62

#### CONCLUSIONES:

Dentro de los coprocultivos positivos para *Campylobacter* durante los años 2011 a 2013, *C. jejuni* es el microorganismo causal más frecuentemente aislado (88%), con un predominio de los aislamientos en pacientes pediátricos y la distribución de sexo es ligeramente más frecuente en hombres.

El mayor número de aislamientos se produjo dentro del período estudiado durante los meses de mayo y junio, datos que coinciden con lo descrito en la bibliografía.

Durante el año 2013 se incrementó el número de coprocultivos en un 35%, a consecuencia de que el Servicio de Microbiología asumió otro sector sanitario, por lo cual el número de aislamientos de *Campylobacter* aumentó (93%).

En el año 2013 se aislaron dos especies más: *C. lari* (1 aislamiento) y *C. upsaliensis* (2 aislamientos)

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 123**

### DIAGNÓSTICO DE ENTEROBIUS VERMICULARIS EN EL SECTOR II DE ZARAGOZA

*Autor/a/s: URCIA ROZAS CARLOTA, TRASOBARES GRACIA MARIA PILAR, GUERRERO BLANCO ARACELI, HERNANDEZ GARCIA MARIA PILAR.*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO MIGUEL SERVET*

*Localidad: ZARAGOZA*

*Correo electrónico del primer firmante: cur80@hotmail.com*

#### INTRODUCCIÓN:

*Enterobius vermicularis* es un nematodo intestinal parásito, más prevalente en niños en edad escolar. Los parásitos adultos miden de 8 a 13 mm, son blancos y viven en el colon, ciego y apéndice. Las hembras ponen unos 10.000 huevecillos, incoloros y transparentes. Cuando estos huevos infestantes son ingeridos por el hombre los embriones eclosionan al llegar al duodeno y las formas juveniles se trasladan al intestino grueso donde alcanzan su madurez sexual en 2-4 semanas. Por las noches las hembras grávidas migran para depositar sus huevos en los pliegues cutáneos del ano.

Produce prurito anal, irritabilidad, dolor abdominal o pélvico y ocasionalmente vulvovaginitis. La sintomatología más característica es prurito anal. El paciente al rascarse puede acoger larvas de oxiuros bajo las uñas favoreciendo la reinoculación y la dispersión del parásito en el entorno familiar y escolar si no se practica un buen lavado de manos.

#### OBJETIVO:

El objetivo de este estudio es analizar la incidencia de *Enterobius vermicularis*, durante el período comprendido entre el 2001-2013, así como su distribución según edad en el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

El diagnóstico de laboratorio se hace microbiológicamente mediante la prueba de Graham, también llamada "cinta de Graham" y "parche anal". Debido a la excreción intermitente de los huevos se deben tomar muestras recogidas de los márgenes del ano con cinta adhesiva transparente que se adhiere a un lado de un portaobjetos, por la mañana en tres días consecutivos. Se debe recomendar al paciente que no se limpie la zona perianal antes de la toma. Deben ser transportadas al laboratorio de microbiología envueltas en papel de aluminio y en un sobre con los datos del paciente, extremando las precauciones en la manipulación porque los huevos son viables a las 4-6 horas de haber sido puestos. Para comodidad del paciente pueden enviarse las tres muestras a la vez. Ya en el laboratorio se observan al microscopio óptico a diferentes aumentos (10x, 20x ó 40x).

#### RESULTADOS:

Durante el período comprendido entre los años 2001 y 2013 se recibieron un total de 7415 muestras de cinta de Graham de las cuales, 451 (6.08%) estaban mal recogidas, lo fueron por cinta opaca, cinta con heces, portaobjetos sin cinta o con cinta pegada por los dos lados y etiqueta identificativa del paciente colocada sobre la cinta.

De las 6964 muestras válidas 659 (9%) fueron positivas, observándose huevos de *E. vermicularis*. Estas muestras positivas correspondían a 631 pacientes con rango de edad de 10 meses a 86 años. La mayoría 483 (90%) eran de edad pediátrica cuyo grupo de edad más numeroso fue entre 6 y 8 años. La distribución por sexos fue muy similar.

También se visualizaron huevos de *E. vermicularis* en 86 muestras de heces enviadas para investigación de parásitos y sin parche anal. Estos hallazgos ocasionales no invalidan la recomendación del uso de la cinta de Graham. Se observó coparasitación por *Giardia* y *Enterobius* en 16 pacientes pediátricos con ambas pruebas realizadas.

#### CONCLUSIONES:

La parasitación por *E. vermicularis* en pediatría es la segunda más frecuente en nuestro entorno, después de *Giardia*.

En los casos pediátricos con cinta de Graham positiva, recomendamos descartar coparasitación por *Giardia* mediante el posterior procesamiento habitual de heces. El entorno sociosanitario y los hábitos higiénicos que favorezcan la reinoculación condicionarán la recuperación del paciente.

Ocasionalmente pueden visualizarse huevos de *E. vermicularis* en el procesamiento habitual de heces para parásitos, aunque no es la prueba inicial recomendada

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 124**

### SEROPREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR CHLAMYDIA TRACHOMATIS EN PACIENTES DE ÁREAS SANITARIAS SUR DE SEVILLA.

*Autor/a/s: López Sánchez Manuel, Sierra Atienza Celestina, Isnard Caro Leonardo Jesús, Delgado Fenoll María, Pozo González María Dolores, Martín Mazuelos Estrella y Vargas Romero Julio.*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario de Valme*

*Localidad: Sevilla*

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

#### INTRODUCCIÓN:

*Chlamydia trachomatis* es una bacteria de pequeño tamaño, parásito intracelular obligado y se la clasifica en 18 serotipos. Hay alrededor de 700 millones de personas infectadas en el mundo y puede producir una gran variedad de infecciones, como uretritis, epididimitis, prostatitis, linfogranuloma venéreo (LGV), cervicitis y salpingitis/anexitis; pudiendo causar infertilidad, aborto precoz y parto prematuro. En las regiones tropicales produce el tracoma. También se la ha relacionado con conjuntivitis y neumonía en el recién nacido y adulto. En el 1-3% de los casos, una infección urogenital es seguida por una artritis reactiva.

Aunque le técnica de referencia para el diagnóstico es la PCR en las secreciones infectadas, esto no siempre es posible por lo que la serología es ampliamente utilizada. El ensayo de microinmunofluorescencia (MIF) es un método serológico rápido y fiable para detectar los anticuerpos específicos frente a Chlamydia y se considera el estándar de oro en serología ya que utiliza cuerpos elementales purificados, lo cual minimiza las reacciones cruzadas.

#### OBJETIVO:

Nuestro objetivo ha sido determinar la seroprevalencia de la infección por C. trachomatis en pacientes del Área Sur de Sevilla, de cualquier edad y sexo, a los que se solicitó durante los años 2012 y 2013 la determinación de anticuerpos IgG.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Hemos revisado los resultados de anticuerpos IgG frente a C. trachomatis en 3764 pacientes (2200 de sexo femenino y 1564 de sexo masculino), con una edad mediana de 42 años (0,02-98), a los que se solicitó dicha determinación entre enero-2012 y diciembre -2013. Por edades y número se distribuyeron en los siguientes grupos: A: 0-15 años (172), B: 16-25 años (465), C: 26-35 años (766), D: 36-50 años (1007), E: 51-64 años (685) y F: >=65 años (669). Todos los pacientes procedían de centros de atención primaria, consultas externas, urgencias o estaban ingresados. Las determinaciones fueron realizadas en el laboratorio de microbiología del Hospital Universitario de Valme (Sevilla), en muestras de suero sanguíneo, mediante una técnica de MIF que utiliza como antígeno partículas elementales de C. trachomatis serotipo K (Anti-Chlamydia MIF IgG, Euroimmun, Germany). Se utilizó una dilución de cribado al 1/100 y en caso de positividad se procedió a titular mediante diluciones seriadas.

#### RESULTADOS:

De los 3764 pacientes estudiados, 118 fueron positivos (3,13%). La edad mediana fue de 34 años (16-86), 80 fueron mujeres (67,8%) y 38 hombres (32,2%). La prevalencia en mujeres ascendió al 3,63% y en hombres al 2,43%.

Por origen: 43 casos (36,4%) provenían de centros de atención primaria, 41 casos (34,7%) de consultas externas, 30 casos (25,4%) de pacientes que estaban hospitalizados y 4 casos (3,4%) de pacientes atendidos en urgencias.

Por grupo de edad: no hubo casos entre 0-15 años, 21 casos entre 16-25 años, 44 casos entre 26-35 años, 24 casos entre 36-50 años, 15 casos entre 51-64 años y 14 casos en mayores de 64 años. Esto representa una prevalencia para los grupos A, B, C, D, E y F del 0%, 4,5%, 5,7%, 2,4%, 2,2% y 2,1% respectivamente.

Por título de anticuerpos: hubo 39 casos con 1/100, 29 casos con 1/200, 22 casos con 1/400, 9 casos con 1/800, 11 casos con 1/1600, 6 casos con 1/3200 y 2 casos con 1/12800. Estos dos últimos correspondían a hombres que practican sexo con hombres (HSH) a los que les fue diagnosticado LGV.

#### CONCLUSIONES:

la mayor prevalencia corresponde a los jóvenes entre 16-35 años, con un predominio en mujeres, debido probablemente a la mayor actividad sexual de este grupo. El resto de la población presenta una menor prevalencia con una tasa muy parecida independientemente de la edad, con la excepción de los pacientes pediátricos en donde no detectamos la presencia de esta infección.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 127**

### PCR A TIEMPO REAL PARA TREPONEMA PALLIDUM, CHLAMYDIA TRACHOMATIS L1-L2-L3 Y HAEMOPHILUS DUCREYI CAUSANTES DE ÚLCERAS GENITALES Y RECTALES.

*Autor/a/s: María Luisa López Sánchez, Anna Mons Manich, Andrea Vergara, Rosa Albarracín, Izaskun Alejo, Miriam Álvarez, Jordi Bosch, Jordi Vila.*

*Centro de trabajo: Servicio de Microbiología (CDB) Hospital Clínic de Barcelona  
Localidad: Barcelona*

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

#### INTRODUCCIÓN:

Tres de las infecciones de transmisión sexual que se manifiestan como úlceras genitales o rectales están causadas por las bacterias: el linfogranuloma venéreo (LGV) causado por los serovares L1, L2 y L3 de Chlamydia trachomatis, la sífilis causada por Treponema pallidum y el cancroide o chancro blando causado por Haemophilus ducreyi.

#### OBJETIVOS:

El objetivo de este estudio fue evaluar la detección de Chlamydia trachomatis L1-L2-L3 (CT-LGV), Treponema pallidum (TP) y Haemophilus ducreyi (HD) mediante una PCR múltiple a tiempo real.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Hemos realizado un estudio retrospectivo de todas las muestras positivas por PCR para CT-LGV, TP y HD en un periodo de 18 meses (de Junio 2012 a Enero 2014). Las muestras de úlceras genitales, rectales o faríngeas y, en algún caso, muestras de adenopatías inguinales, de pacientes con sospecha de infección de transmisión sexual se recogieron mediante un escobillón de nylon.

El sistema EZ-1 mini-virus y el Biorobot EZ1®(Qiagen) se utilizaron para la extracción del DNA, mientras que el kit RealCycler THLV® (Progenie Molecular) y el SmartCycler®(Cepheid) se utilizaron para la amplificación del DNA y la detección del DNA amplificado.

La co-infección con Neisseria gonorrhoeae (detectado por PCR y/o cultivo) y el VIH (Virus de Inmunodeficiencia Humana), así como la serología de sífilis (VDRL y anticuerpos treponémicos IgG e IgM), también fueron analizados.

#### RESULTADOS:

Se analizaron un total de 280 muestras. De éstas, 80 muestras (28,6 %) procedentes de 71 pacientes fueron positivas (63 pacientes tenían una sola muestra positiva y 6 tuvieron dos o más muestras positivas).

Setenta pacientes (98,6%) eran hombres y la edad media fue de 39,6 años.

TP se detectó en 35 (49,3 %) de los pacientes y CT-LGV en los 36 restantes (50,7 %). No se detectaron casos de HD.

El diagnóstico más frecuente fue el de proctitis en 36 pacientes (50,7 %), seguido de úlcera genital en 29 (40,8 %), adenopatía inguinal en 3 (4,2 %) y úlcera faríngea en 3 (4,2 %).

TP fue más común entre los pacientes con úlceras genitales (27 de 29: 93,1 %) y faríngeas (3 de 3), mientras que CT-LGV fue diagnosticado sobretudo en pacientes con proctitis o úlceras rectales (31 de 36: 86,1 %) y con adenopatía inguinal (3 de 3).

La serología HIV fue positiva en el 77,1 % de los pacientes con TP y en el 80,6 % de aquellos con CT-LGV.

Entre los pacientes con sífilis en los que se realizó la detección de anticuerpos específicos simultáneamente a la PCR, 22 de 34 (64,7 %) eran VDRL positivo (rango 1/1 a 1/2048), 13 de 26 (50 %) Ac treponémicos IgM positivos y 17 de 27 (62,9 %) Ac treponémicos IgG positivos.

Dos pacientes con proctitis por CT-LGV también fueron positivos por PCR para N. gonorrhoeae.

#### CONCLUSIONES:

En nuestro hospital no se detectó ningún caso de infección por HD durante los 18 meses de estudio. TP fue la principal causa de úlceras genitales, mientras que CT-LGV se detectó sobre todo en casos de proctitis.

La PCR de TP permitió un diagnóstico más precoz que la serología luética.

La PCR múltiple a tiempo real es una herramienta útil para el diagnóstico de las úlceras genitales y rectales de etiología bacteriana, ya que proporciona unos resultados rápidos y fiables.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 128**

### PCR A TIEMPO REAL PARA LA DETECCIÓN DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS Y NEISSERIA GONHORREA CAUSANTES DE INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL.

*Autor/a/s: Anna Mons Manich, María Luisa López Sánchez, Andrea Vergara, Izaskun Alejo, Jordi Bosch, Jordi Vila.*

*Centro de trabajo: Hospital Clínic de Barcelona  
Localidad: Barcelona*

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

#### INTRODUCCIÓN:

Dos de las infecciones de transmisión sexual de mayor incidencia en nuestro país están causadas por las bacterias: Chlamydia trachomatis y Neisseria gonorrhoeae.

## OBJETIVOS:

El objetivo de este estudio fue evaluar la detección de *Ch.trachomatis* (CT) y *N.gonorrhoeae* (NG) usando una PCR múltiple a tiempo real.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Hemos realizado un estudio prospectivo de detección mediante la PCR de CT/NG en un período de 18 meses (de Junio de 2012 a Enero de 2014). Las muestras de uretra, endocérvix, recto y faringe, de pacientes con sospecha de infección de transmisión sexual se recogieron mediante un escobillón de nylon.

El equipo EZ-1 mini-virus y el Biorobot EZ1® (Qiagen) se utilizaron para la extracción del DNA, mientras que el equipo Anyplex CT/NG (Seegene®) y el SmartCycler® (Cepheid) se utilizaron para la amplificación del DNA y la detección del DNA amplificado.

Se ha estudiado también la correlación con el cultivo de *N. gonorrhoeae* y con la PCR específica para los serovares L1-L2-L3 de *Ch. trachomatis* (causantes de linfogranuloma venéreo, LGV).

## RESULTADOS:

Se analizaron un total de 856 muestras de las que 140 (16,4 %), procedentes de 134 pacientes, fueron positivas: 71 frotis uretrales, 38 frotis rectales, 22 frotis endocervicales y 9 frotis faríngeos.

La PCR fue positiva para *Ch.trachomatis* en 73 muestras (52,1%), para *N.gonorrhoeae* en 55 (39,3%) y para ambos microorganismos en 12 (8,6%).

Veinticuatro de las muestras (17 %) eran de mujeres: el 91,6% procedían de endocérvix, el 4,2% de faringe y el 4,2% de recto. La media de edad era de 30 años.

Ciento dieciséis de las muestras (83%) eran de hombres: el 61,2% de las muestras fueron uretrales, el 31,9% rectales y el 6,9% faríngeos. La media de edad fue 34,8 años.

De los 71 frotis uretrales positivos, 40 (56,3%) lo fueron a NG, 25 (35,2%) a CT y 6 (8,5%) a ambas bacterias.

De los 38 frotis rectales positivos, 25 (65,8%) lo fueron a CT, 8 (21%) a NG y 5 (13,2%) a ambas bacterias.

De los 22 frotis endocervicales positivos, 20 (90,9%) lo fueron a CT y 2 (9,1%) a NG.

De los 9 frotis faríngeos positivos, 5 (55,5%) lo fueron a NG, 3 (33,4%) a CT y 1 (11,1%) a ambas bacterias.

En 12 de las muestras rectales positivas para CT, se les realizó además la determinación de la PCR para los serovares L1-L2-L3 de *Ch.trachomatis* causantes de LGV, siendo positiva en todas ellas.

En 45 pacientes con PCR positiva a NG se realizó simultáneamente cultivo, siendo positivo en 38 de ellas (84,4 %) y negativo en las 7 restantes (15,6 %).

## CONCLUSIONES:

La PCR múltiple a tiempo real es una herramienta útil para el diagnóstico de las infecciones de transmisión sexual causadas *Ch trachomatis* y *N.gonorrhoeae*, ya que proporciona resultados rápidos y fiables.

La PCR para NG puede ser positiva en algunos pacientes con cultivo negativo para gonococo que hayan recibido tratamiento o en los que se demore la realización del cultivo.

*Ch.trachomatis* se detecta sobre todo en muestras endocervicales de mujeres, mientras que ambos microorganismos se detectan en muestras uretrales y rectales de hombres.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 129**

### CULTIVOS DE HEMOCULTIVOS EN EL AÑO 2013

*Autor/a/s: González Rosa, Manuel. Moya Moreno, María Teresa. Márquez Salazar, Rafael*

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

*Localidad: MÁLAGA*

*Correo electrónico del primer firmante: mangoros62@hotmail.com*

## INTRODUCCIÓN:

Un hemocultivo es un cultivo microbiológico de la sangre. Es un método diagnós-

tico en medicina empleado para detectar infecciones por bacterias (Bacteriemia) u hongos en la sangre.

## OBJETIVOS:

Conocer el total de muestras de hemocultivos recibidas e identificar los microorganismos más frecuentes en el Hospital Virgen de la Victoria de Málaga durante el año 2013.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se toman 10ml de sangre por venopunción y se inocula en dos frascos que contienen un medio de cultivo para organismos aerobios y anaerobios. Estos hemocultivos son introducidos en el BACT/ALERT 3D durante un período de incubación de 5 días. Una vez positivos los frascos se realiza la siembra en agar sangre, agar chocolate, agar Mac conkey y un caldo de enriquecimiento Todd Hewitt Broth.

Para la identificación y sensibilidad utilizamos el sistema automatizado Walk-Away (siemens), usando los paneles Pc31, Pc32, Nc53 y Nc54.

## RESULTADOS:

Comprobamos que las muestras de hemocultivos procesadas en el hospital Virgen de la Victoria durante el año 2013 fueron 11470, de las cuales 8496 que equivale al 74% son negativas y 2974 son positivas siendo el 26%. De estos positivos detectamos que los *Staphylococcus* son los más abundantes con 1.156 un 38%, seguidos de las *Enterobacterias* con 586, equivalentes a un 19,7%. También prestamos especial atención a las *Cándidas* que cuantificamos en 68 aislamientos, siendo un 2,3% de las muestras totales.

## CONCLUSIONES:

Observando que los *Staphylococcus* coagulasa negativos son los más abundantes entre los positivos, entre ellos, el *Staphylococcus epidermidis* que fue aislado en 602 ocasiones. Deducimos que las contaminaciones en la toma de la muestra de hemocultivos, suelen ser muy frecuentes.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 139**

### COMPARACIÓN ENTRE EL SISTEMA AUTOMATIZADO WIDER Y EL ENSAYO DE DILUCIÓN EN AGAR, PARA EL ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD A FOSFOMICININA, EN UNA COLECCIÓN DE AISLADOS CLÍNICOS DE ESCHERICHIA COLI, KLEBSIELLA PNEUMONIAE Y KLEBSIELLA OXYTOCA.

*Autor/a/s: Francisco Javier Caballero Moyano; Paula M<sup>a</sup> Díaz de Alba; Lara Serano Rocha; Estefanía Ortiz Ariza.*

*Centro de trabajo: DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE SEVILLA*

*Localidad: Sevilla*

*Correo electrónico del primer firmante: caballero\_moyano86@hotmail.com*

## INTRODUCCIÓN:

En los últimos años está aumentando el interés sobre el uso de fosfomicina en infecciones graves causadas por cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. Esto se debe a que estos microorganismos mantienen una elevada sensibilidad a este antimicrobiano. El Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) establece las categorías de sensible, intermedio y resistente en concentraciones en  $\geq 256$  mg/L, 128 mg/l y  $\leq 64$  mg/L, respectivamente, para únicamente aislados de *E. coli* de origen urinario. Por otro lado, el sistema automatizado para la detección de sensibilidad/resistencia, Wider (Fco. Soria Melguizo), mediante los paneles MIC/ID Gram Negativos REV.2 (Siemens) informa de 3 posibles rangos de concentraciones, >64, 64-32 o  $\leq 16$  mg/L utilizando los criterios del CLSI.

Objetivo:

El objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad discriminativa del sistema automatizado Wider para la evaluación de la sensibilidad a fosfomicina de aislados clínicos de *E. coli*, *K. pneumoniae* y *K. oxytoca*.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

De enero hasta julio de 2013 se recogieron en el H.U. Virgen Macarena todos los aislados clínicos de *E. coli*, *K. pneumoniae* y *K. oxytoca* de muestras de orina, sangre, biliares o abdominales con CMI  $\geq 32$  mg/L. Adicionalmente, se seleccionaron un grupo control de aislados con CMI  $\leq 16$  mg/L. Todas las cepas fueron analizadas mediante el sistema automatizado Wider, mediante paneles MIC/ID Gram Negativos REV.2. La CMI para fosfomicina se determinó mediante la técnica de re-

ferencia de dilución en agar, según las indicaciones del CLSI. Se utilizaron placas de Mueller Hinton Broth II con concentraciones crecientes en log<sub>2</sub> de fosfomicina desde 0,5 hasta 256 mg/L y glucosa-6-fosfato (25 mg/L) que fueron inoculadas utilizando un replicador de Steers. El ensayo se realizó por duplicado y triplicado en caso de discrepancias de más de una dilución. Debido a que el sistema Wider no puede informar de categoría intermedia (128 mg/L), los aislados con CMI >64 mg/L se establecieron como categoría resistente para el análisis. Debido a esto los errores menores se subestimarán y los errores mayores serán sobrestimados. Se analizaron los porcentajes de acuerdos en la categoría, errores menores, errores mayores y errores máximos entre ambas técnicas.

#### RESULTADOS:

Sistema Wider	CMI	>64 (Resistente/Intermedio)		64-32 (Sensible)		≤16 (Sensible)	
		N	%	N	%	N	%
Cepas	Total						
K. pneumoniae	142	54	38,03	62	43,66	26	18,31
K. oxytoca	37	14	37,84	13	35,14	10	27,03
E. coli	81	18	22,22	33	40,74	30	37,04

Tipo de error	K. pneumoniae		K. oxytoca		E. coli	
	N	%	N	%	N	%
Acuerdos de categoría	101	71,13	25	67,57	59	72,84
Errores máximos	20	14,08	5	13,51	6	7,41
Errores mayores	21	14,79	6	16,22	10	12,35
Errores menores	0	0	1	2,7	6	7,41
Total	142	100	37	100	81	100

#### CONCLUSIONES:

El sistema automatizado Wider no resulta adecuado para la detección de sensibilidad a fosfomicina en aislados clínicos de E. coli, K. pneumoniae y K. oxytoca debido al elevado porcentaje de errores máximos, especialmente en los aislados con CMI ≥32.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 140

#### ESTUDIO DE COLONIZACIÓN POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORES DE BLEE EN PARTURIENTAS Y TRANSMISIÓN MADRE-HIJO

Autor/a/s: Francisco Javier Caballero Moyano; Lara Serrano Rocha; Paula M<sup>a</sup> Díaz de Alba, Estefanía Ortíz Ariza.

Centro de trabajo: DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Localidad: Sevilla

Correo electrónico del primer firmante: caballero\_moyano86@hotmail.com

#### INTRODUCCIÓN:

Escherichia coli es uno de los agentes causantes de infecciones neonatales graves más comunes. El ritmo creciente de la colonización intestinal con Enterobacterias productoras de Beta-Lactamasas de Espectro Extendido (BLEE) en la comunidad puede aumentar el riesgo de transmisión materno-fetal.

#### OBJETIVOS:

Estudiar la prevalencia de colonización de Enterobacterias productoras de BLEE en las mujeres que dan a luz en nuestro hospital y la tasa de transmisión a los recién nacidos.

#### MÉTODOS:

Los hisopos vagino-rectales de las madres y los hisopos rectales de los recién nacidos fueron recogidos durante un período de 3 meses. La identificación bacteriana se realizó por métodos estándar y los aislados de Enterobacterias productoras de BLEE se confirmaron por el fenotipo de resistencia utilizando doble disco en agar Mueller Hinton con y sin 200 mg/l de cloxacilina según Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI). La relación genética entre los aislados de E. coli fue determinada por electroforesis en campo pulsante (ECP) digeridos con la enzima de restricción XbaI. Los dendogramas fueron realizados con el software Fingerprinting 3.0 (Bio-Rad), utilizando el coeficiente Dice y el 1% de tolerancia.

#### RESULTADOS:

Desde agosto hasta octubre de 2013, 39 de 406 (9,6%) de las madres que dieron a luz en nuestra institución fueron colonizadas con aislados de Enterobacterias productoras de BLEE. Fueron E. coli productor de BLEE 33 (85%); 5 (13%) Klebsiella pneumoniae productor de BLEE y 1 (2,5%) se identificó como Klebsiella oxytoca productor de BLEE. Nueve de sus recién nacidos (2,2%) fueron colonizados en menos de 24 h después del nacimiento. En 7 (77%) parejas madre-hijo se detectó E. coli productor de BLEE con pulsotipos idénticos. Además, un niño fue colonizada por E. coli productor de BLEE pero su madre fue colonizada por K. pneumoniae productor de BLEE, y un niño fue colonizado mientras que su madre no se detectó que estuviera colonizada. Un neonato colonizado sufrió una infección del tracto urinario causado por E. coli productor de BLEE y fue internado en la Unidad de Cuidado Neonatal.

#### CONCLUSIONES:

- 1) Los resultados obtenidos mostraron una alta prevalencia de madres colonizadas por Enterobacterias productoras de BLEE que dan a luz en nuestra institución, que es superior a la encontrada en estudios recientes en voluntarios sanos en España.
- 2) Se encontró evidencia de la transmisión madre-neonato durante las primeras 24 h después del nacimiento en el 18% de las madres colonizadas.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 141

#### MEJORA DE LA TIPIFICACIÓN MOLECULAR EPIDEMIOLÓGICA DE ESCHERICHIA COLI USANDO ELECTROFORESIS EN CAMPO PULSANTE Y TIUREA.

Autor/a/s: Francisco Javier Caballero Moyano; Lara Serrano Rocha; Paula M<sup>a</sup> Díaz de Alba; Estefanía Ortíz Ariza.

Centro de trabajo: DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Localidad: Sevilla

Correo electrónico del primer firmante: caballero\_moyano86@hotmail.com

#### INTRODUCCIÓN:

La técnica electroforesis en campo pulsante se considera la técnica de referencia para el tipado molecular en epidemiología. Sin embargo, el ADN de algunas especies bacterianas se degrada por la actividad endonucleasa del compuesto TRIS durante la electroforesis en campo pulsante. Estudios previos sugieren la adición de tiourea en el buffer de electroforesis, como el método usado para evitar la degradación del ADN en especies bacterianas, fundamentalmente en enterobacterias. Los porcentajes de patrones electroforéticos obtenidos tras adición de tiourea fueron de 100% para Klebsiella pneumoniae, Serratia marcescens, Pseudomonas aeruginosa, y Salmonella spp., del 95.4% para Escherichia coli, y del 50% para Enterobacter cloacae. Sin embargo, no mejoró en Acinetobacter spp.

#### OBJETIVOS:

Evitar la degradación de ADN durante la electroforesis en campo pulsante en aislados de E. coli.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realizó electroforesis en campo pulsante (Protocolo Pulsenet, según recomendaciones de Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA, 2004) usando como enzima de restricción XbaI. Aquellos aislados de E. coli cuyo ADN se degradó durante la electroforesis, se realizó de nuevo la técnica Pulsenet pero adicionando 20mg/L de tiourea al buffer TBE 0.5X de electroforesis. Los patrones electroforéticos se analizaron utilizando el Software Fingerprinting II (Bio-Rad) que permite la construcción de un dendrograma que agrupa aislados relacionados genéticamente.

#### RESULTADOS:

A un total de 52 aislados de E. coli se le realizó la técnica electroforesis en campo pulsante. De estos, el ADN se degradó en 5 aislados (9,6%). Estos aislados no tipables se evaluaron de nuevo por electroforesis en campo pulsante, pero adicionando tiourea (20mg/L), obteniéndose patrones electroforéticos en todos ellos (100% no degradación de ADN).

## CONCLUSIONES:

Los porcentajes de aislados no tipables recuperados tras la adición de tiourea está en consonancia con los trabajos publicados.

Tiourea podría ser usada como método de rutina para la recuperación de aislados que sufran degradación del ADN durante la electroforesis en campo pulsante.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 142

### PORCENTAJE DE HEMOCULTIVOS FALSOS POSITIVOS Y SU RELACIÓN CON LOS SERVICIOS HOSPITALARIOS

Autor/a/s: Fernández Cuesta Manuel, Egido Andrés María Teresa, Rico Naya Ana María, García Camazano Rosa María

Centro de trabajo: Hospital Universitario de Salamanca

Localidad: Salamanca

Correo electrónico del primer firmante: llopezmanuel@yahoo.es

## RESUMEN:

El hemocultivo (cultivo de una muestra de sangre) constituye una técnica imprescindible en el diagnóstico microbiológico de las bacteriemias y septicemias.

Si bien los sistemas automatizados utilizados en la actualidad han logrado disminuir la carga de trabajo de los laboratorios y acortar el tiempo de respuesta, en ocasiones informan falsos positivos lo que repercute negativamente en el coste y tiempo del personal técnico.

## OBJETIVO:

El objetivo es determinar el porcentaje de FALSOS POSITIVOS (no crecimiento en botellas consideradas positivas) y su relación con los distintos Servicios hospitalarios.

## MATERIALES Y MÉTODOS:

El sistema automatizado disponible en nuestro laboratorio es el BACTEC 9240. Las botellas de hemocultivo se incuban en agitación a 37°C y se mantiene durante siete días antes de considerarlas negativas. Cuando el analizador detecta incremento de CO<sub>2</sub> emite una señal considerando positiva la botella (crecimiento bacteriano o fúngico) en cuyo caso se procede a retirar la botella, realizar una tinción de Gram y su siembra en medios específicos: Agar Sangre, Agar Mac Conkey y Agar Chocolate.

Se han revisado los frascos de hemocultivos considerados positivos por el sistema BACTEC durante los seis últimos meses, valorando el resultado del Gram y el crecimiento o no de microorganismos.

## RESULTADOS:

Desde Agosto de 2013 a Enero de 2014 se han procesado 9708 botellas de hemocultivos. De ellas el sistema BACTEC consideró positivas 1705 (17,6%) y 8003 (82,4%) negativas. Del total de positivas, en 88 (5,1%) no se observaron microorganismos en la tinción de Gram ni crecimiento en las placas de cultivo, considerándose falsos positivos.

De estos falsos positivos, los servicios con mayor número registrado fueron: Hematología (20), M. Interna (17), Pediatría (10), Digestivo (5), Urgencias (4), Cardiología (3), Neurocirugía (3) y Oncología.

Tabla 1. Resultados de hemocultivos

	Positivos	Negativos	Falsos Positivos
Total 9708	1617 (16,6%)	8003 (82,5%)	88 (0,9%)

Tabla 2. Procedencia de los falsos positivos.

Hematología	M. Interna	Pediatría	Digestivo	Urgencias	Cardio.	Neurocir.	Oncología	Otros
20	17	10	5	4	3	3	3	23

## CONCLUSIONES:

- 1.-El porcentaje de positividad de los hemocultivos en nuestro hospital es del 16,6%.
- 2.-Un 0,9 % del total de hemocultivos fueron falsos positivos.
- 3.-La mayoría de los hemocultivos positivos procedían de Hematología, Medicina Interna y Pediatría.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 150

### UTILIDAD DEL SISTEMA MALDI-TOF MS (MATRIX-ASSISTED DESORPTION/IONIZATION TIME OF FLIGHT, MASS SPECTROMETRY) PARA DISMINUIR EL TIEMPO DE IDENTIFICACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS AISLADOS EN HEMOCULTIVOS POSITIVOS

Autor/a/s: Campo Chaos Irene, Melción Solé Conchita, Monté Puig, M Rosa, Almela Prades Manuel, Marco Reverté Francesc

Centro de trabajo: Servicio de Microbiología-CDB. Hospital Clínic.

Localidad: BARCELONA

Correo electrónico del primer firmante: irenecampo61@gmail.com

## INTRODUCCIÓN:

La identificación rápida de los microorganismos patógenos que se aíslan con mayor frecuencia en hemocultivos positivos proporciona una información valiosa para seleccionar el tratamiento antibiótico más adecuado.

Objetivo.

Describir la utilidad del sistema Maldi-Tof MS para identificar de forma directa en el hemocultivo el microorganismo aislado.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

En los hemocultivos positivos que mediante la tinción de Gram se demostró la presencia de un solo microorganismo se procedió de la siguiente forma: 1. Siembra en medios de cultivos habituales. 2. Protocolo de identificación directa: se extrajeron 10 ml del frasco de hemocultivo positivo y se centrifugaron a 1500 rpm durante 5 minutos. 3 ml del sobrenadante se centrifugaron de nuevo a 13000 rpm durante 1 minuto. El sedimento se lavó dos veces con suero fisiológico y después de eliminar el sobrenadante se depositó 1 ml, por duplicado, en la tarjeta de identificación. A continuación se añadió 1 ml de matriz (que permite romper la pared del microorganismo) y se procedió a la lectura con el sistema Maldi-Tof. La identificación obtenida por el método rápido se comparó con la identificación habitual por Maldi-Tof a partir de las colonias crecidas en placas de cultivo.

## RESULTADOS:

Se han incluido en el estudio un total de 146 hemocultivos. Por el método habitual se identificaron 148 microorganismos. En dos hemocultivos había dos microorganismos, uno con 2 E. coli que tenían diferente antibiograma y el otro con E.coli y K.pneumoniae. El método rápido identificó correctamente 144 (97,2%) microorganismos. No se obtuvo una identificación adecuada en los dos hemocultivos mixtos. El tiempo empleado, una vez se conoce el resultado de la tinción de Gram, fue inferior a 1 hora. En la tabla se resumen los resultados obtenidos por el sistema habitual y por el sistema rápido.

Microorganismos	Identificación habitual (n)	Identificación rápida (n)
E. coli	56	53
K. pneumoniae	25	24
Pseudomonas spp	16	16
Enterobacter spp	13	13
Enterococcus spp	12	12
Otros Cocos Gram pos	10	10
Otras Enterobacterias	8	8
Otros	8	8

## CONCLUSIONES:

El método rápido empleando el sistema Maldi-Tof identificó correctamente el 97,2 % de los microorganismos aislados en los hemocultivos positivos estudiados. Consideramos que es una metodología altamente eficaz cuya información contribuye a escoger el tratamiento antimicrobiano más adecuado.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 153

### ESTUDIO DE LA UTILIDAD DE LA TÉCNICA MALDI-TOF MS EN LA IDENTIFICACIÓN DE MICOBACTERIAS COMPARÁNDOLO CON MÉTODOS TRADICIONALES.

Autor/a/s: Monté Puig, Maria Rosa, Campo Chaos Irene, Ricart Alemany Dolors, Tudó Vilanova Griselda, González Martín Julià.

## INTRODUCCIÓN:

La identificación de las especies de micobacterias es compleja. Durante años, se han usado pruebas bioquímicas así como las características morfológicas evidenciadas en el crecimiento. En los últimos años han tomado importancia las técnicas basadas en biología molecular. La metodología Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization Time Of Flight, MALDI-TOF MS, ofrece en el momento presente una alternativa rápida y eficiente para identificación.

## OBJETIVO:

Evaluación de la técnica MALDI-TOF MS en la identificación de micobacterias aisladas en medios de cultivo líquidos y sólidos en comparación con métodos de referencia.

## MATERIALES Y MÉTODOS:

A partir de cultivos de micobacterias positivas se ha realizado una tinción de Ziehl-Neelsen de confirmación y se ha actuado según los siguientes protocolos:

- Identificación con los métodos de referencia del laboratorio: Comprobación de la morfología en tinción Ziehl-Neelsen y, de acuerdo al resultado se ha realizado PCR-TB (IS6110) o sondas de hibridación (GenProbe), o secuenciación del gen ARNr 16S micobacteriano.
- Identificación con MALDI-TOF: Se ha utilizado el protocolo comercial Bruker Daltonics. Todo el proceso se realiza en aproximadamente 90 minutos. Interpretación: El equipo clasifica los resultados en cuatro categorías: A: identificación altamente probable a nivel de género y de especie; B: identificación segura de género C: identificación no segura; D: ausencia de picos.

## RESULTADOS:

Se han procesado un total de 145 cultivos positivos por los métodos de referencia y por MALDI-TOF MS. Los resultados han coincidido en 101 cultivos (69.5%), siendo 40/145 (27.5%) en categoría A, 39/145 (26.8%) en categoría B, 22/145 (15.1%) en categoría C. No han coincidido 1/145 (0.68%) en categoría B, 2/145 (4.8%) en categoría C y 11/145 (7.6%) en categoría D. Según el medio de cultivo utilizado la sensibilidad de MALDI-TOF MS ha sido del 54/68 (79.4%) en medio sólido y en medio líquido ha sido del 46/74 (62.1%). La especificidad global del método ha sido del 96.3% cuando MALDI-TOF clasificaba el resultado en las categorías A o B y del 66.6% en la categoría C. No se han observado diferencias comparando los resultados obtenidos de Mycobacterium tuberculosis respecto a las demás especies.

## CONCLUSIONES:

- Los resultados obtenidos clasificados en las categorías A o B poseen una especificidad muy elevada (96.3%).
- La sensibilidad de la técnica MALDI-TOF MS es superior en cultivos sólidos versus líquidos lo que sugiere que se debe mejorar el proceso de extracción a partir de estos últimos.
- La aplicación de la nueva tecnología MALDI-TOF MS para la identificación de Mycobacterium tuberculosis y Mycobacterium spp, podría sustituir a los métodos actuales como son la PCR y, la secuencia de ADN obteniendo un diagnóstico más rápido de la infección.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 155

## ¿QUÉ APORTA EL SISTEMA DE PCR ANYPLEX™ II PARA EL DIAGNÓSTICO DE MYCOPLASMA GENITALIUM?

Autor/a/s: Marta María Santana García, Georgina Hernández Díaz, Edelia Jiménez Suárez, Hanan Zarrif, Fernando Cañas Hernández.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO INSULAR DE GRAN CANARIA

Localidad: LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

Correo electrónico del primer firmante: avemaria69@hotmail.com

## INTRODUCCIÓN:

Mycoplasma genitalium es un microorganismo que ha sido relacionado con patologías como la uretritis, cervicitis, salpingitis e infertilidad. La principal limitación para su detección es la dificultad para cultivarlo, ya que requiere medios y condiciones de crecimiento especiales, y el tiempo que tarda para crecer. La técnica de PCR se ha convertido en el principal método de detección de este patógeno.

## OBJETIVOS:

Conocer la prevalencia de las infecciones por Mycoplasma genitalium en el área sur de las Palmas de Gran Canaria.

Destacar la importancia del sistema PCR Anyplex™ II para la detección de este patógeno.

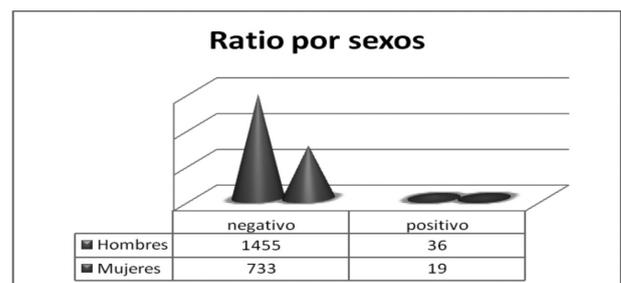
## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realizó un estudio retrospectivo para evaluar la prevalencia de M.genitalium en una población de mujeres y hombres activos sexualmente, del área sur de Las Palmas de Gran Canaria. Para la extracción del DNA de los exudados endocervicales y uretrales se mezclaron 150 µl del medio líquido con 150 µl de DES (Solución de extracción del DNA), se llevaron al vórtex 10 segundos, se calentaron a 95°C durante 20 minutos, se centrifugaron a 13.000 rpm durante 5 minutos. La preparación de la MasterMix se realizó en un eppendorf de 1.5 ml estéril, en un volumen final de 16 µl, la mezcla contenía 5 µl de 4X STI-7 TOM, 5 µl de RNase agua pura, 5 µl de 4X Anyplex PCR Master Mix (UDG) y 1µl de Control interno. Se alicuotaron 16 µl de Mastermix en cada tubo de la tira para CFX96 y 5 µl del ADN extraído. Para el control negativo se añadieron 5 µl de agua ultrapura de PCR y de control positivo 5 µl de STI-7 PC. Se taparon bien los tubos y se inició la amplificación del CFX 96.

## RESULTADOS:

Durante el periodo de estudio se diagnosticaron 2243 muestras de exudados endocervicales y uretrales, de las cuales 752 (33.52%) correspondieron a mujeres y 1491 (66.47%) a hombres. De las 752 muestras de sexo femenino 19 (2.41%) fueron positivas y de las 1491 de muestras de sexo masculino 36 (2.52%) fueron positivas.

Sexo	Positivos	Negativos	Total
Mujer	19	733	752
Hombre	36	1455	1491
Total	55	2188	2243



## CONCLUSIÓN:

Las técnicas basadas en la amplificación del ADN, dada su alta sensibilidad y especificidad, están demostrando ser muy útiles para detectar la presencia de M. genitalium en las muestras de exudados endocervicales y uretrales.

**UTILIZACIÓN DEL ALFRED 60® COMO SCREENING PARA CULTIVO DE ORINAS DE PACIENTES EXTRAHOSPITALARIOS.**

Autor/a/s: Georgina Hernández Díaz, Edelia Jiménez Suárez, Marta María Santana García, Ana María Cabrera Benítez, Tomás Tosco Núñez, Oriol Martín Pujol.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO INSULAR DE GRAN CANARIA

Localidad: LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

Correo electrónico del primer firmante: ginahd@hotmail.es

**INTRODUCCIÓN:**

La finalidad de los métodos de cribado para el cultivo de orinas es descartar las orinas negativas de forma rápida y fiable y seleccionar aquellas con mayor probabilidad de indicar una infección.

Para ello existen diferentes sistemas de procesamiento automático como el analizador Alfred 60®, que permite de manera sencilla y rápida trabajar las muestras y obtener los resultados.

**OBJETIVOS:**

1. Calcular tanto la especificidad y sensibilidad como el valor predictivo positivo (VPP) y predictivo negativo (VPN) del Alfred 60® en comparación con el cultivo convencional como método de referencia.
2. Valorar la utilidad de un sistema de screening para el cultivo de orinas en pacientes extrahospitalarios.

**MATERIAL Y MÉTODOS:**

Se estudiaron 601 orinas, enviadas al servicio de Microbiología del Hospital Universitario Insular de Gran Canaria, de origen extrahospitalario (población pediátrica y adulta) y se procesaron mediante el analizador Alfred 60®.

Estas orinas se recibieron en un bote estéril específico que mediante un sistema de vacío se trasvasa a los tubos que finalmente se introducen en el Alfred 60®.

El Alfred 60® realiza sucesivas mediciones de turbidez en un medio de cultivo líquido durante un período de incubación de tres horas, indicando finalmente el número estimado de unidades formadoras de colonias (UFC/ml) presentes en orina. Finalizado el proceso, el equipo permite la transmisión automática de resultados al sistema informático del laboratorio.

Las orinas positivas obtenidas por Alfred 60® fueron sembradas de forma cuantitativa en Agar Sangre y McConkey,

Las muestras fueron consideradas positivas según los siguientes criterios:

Alfred 60®:  $\geq 30.000$  UFC/ml

**RESULTADOS:**

La sensibilidad del Alfred 60® fue del 96 %, mientras que la especificidad fue del 89%. Tanto el VPP (92%) como el VPN (89%) mostraron resultados fiables.

	Cultivo +	Cultivo -		SENSIBILIDAD	96%
ALFRED +	333	29	362	ESPECIFICIDAD	89%
ALFRED -	13	226	239	VPP	92%
Total	346	255	601	VPN	89%

Se obtuvo un 3,8 % de falsos negativos que se correspondían con microorganismos gram positivos y gram negativos indistintivamente. Los falsos positivos (11,4 %) se trataban de muestras con más de tres microorganismos sin un recuento significativo de ninguno de ellos.

**CONCLUSIONES:**

Una de las principales ventajas del sistema de cribado es la rapidez en el análisis permitiendo obtener resultados en tres horas.

La utilización del analizador evitará la siembra de un 40% de las orinas recibidas. Además, el equipo permite la transmisión automática de los resultados al sistema informático

Independientemente de la automatización del equipo, se requiere la labor de un TEL encargado del procesamiento de las muestras, mantenimiento del equipo, lectura de las gráficas y solución de los posibles errores. En el caso de que las gráficas fuesen anómalas, se procederá a la siembra de dichas muestras.

A la vista de los resultados el analizador Alfred 60® es un método adecuado para realizar un cribado de orina.

**EVALUACION DEL METODO GENEXPERT PARA LA DETECCION DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE**

Autor/a/s: MARIA TERESA RODRIGUEZ CALVIÑO Y MARIA DE LOS ANGELES GARCIA SAAVEDRA

Centro de trabajo: HOSPITAL ARQUITECTO MARCIDE

Localidad: FERROL

Correo electrónico del primer firmante: MARIA.TERESA.RODRIGUEZ.CALVINO@SERGAS.ES

**INTRODUCCIÓN:**

Para el diagnóstico de la Infección por Clostridium difficile (ICD) se utiliza en nuestro laboratorio de forma rutinaria un test de Enzimoimmunoanálisis (EIA) rápido de membrana (TECHLAB C. DIFFICILE QUICK CHEK COMPLETE), que detecta la presencia de toxina A y toxina B y el antígeno (C. difficile Glutamato deshidrogenasa).

Debido a la existencia de resultados discordantes (antígeno positivo/toxina negativa ó antígeno negativo/toxina positiva) decidimos utilizar una técnica de PCR que confirme la presencia de toxina, obteniendo así resultados más fiables.

**OBJETIVOS:**

Estudio y comparación de los resultados obtenidos desde la introducción en febrero de 2011 de un nuevo método de PCR para la detección de toxina de C. difficile.

**MATERIAL Y MÉTODOS:**

A 59 muestras de heces entre 2011 y 2014 se realiza una extracción y PCR en el sistema GeneXpert-DX (IZASA). El sistema identifica y diferencia la toxina B y la toxina binaria en el plazo de una hora. Los cartuchos son desechables y están listos para su uso. Las sondas del ensayo detectan secuencias de los genes de la toxina B (todB) y la toxina binaria (cdt).

**RESULTADOS:**

A los 59 casos analizados en el GeneXpert entre 2011 y 2014 los clasificamos en dos grupos.

En 30 se obtiene por la técnica EIA un resultado discordante; es decir, antígeno positivo/toxina negativa. En estos casos por la técnica PCR se obtienen 21 positivos (un 70%), informándose como infección por C. difficile. Los 9 casos restantes, PCR negativa, se informan como posibles portadores de C. difficile no productores de toxina.

El otro grupo de 29 muestras corresponden a pacientes ingresados en UCI, y a todos ellos se les realiza el EIA y la PCR. Se obtienen 5 casos positivos en ambas técnicas. En 24 casos, el EIA fue negativo tanto para la detección de toxina como del antígeno; de estos casos, uno de ellos fue positivo en el Genexpert.

**CONCLUSIONES:**

El sistema GeneXpert-DX (IZASA), es un método rápido y fiable a la hora de diagnosticar una infección por C. difficile, disminuyendo el porcentaje de resultados discordantes a la hora de emitir un resultado.

**EL SARAMPIÓN Y EL PERSONAL SANITARIO EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO BASURTO**

Autor/a/s: ISABEL MORENO RENTERO, M<sup>a</sup> BEGOÑA FERNANDEZ PALACIOS, M<sup>a</sup> BELEN SANTOS MONTEJO, M<sup>a</sup> JESÚS PEREZ PALACIOS, PALOMA LIENDO ARENZANA, RAMÓN CISTERNA CANCER.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO BASURTO

Localidad: BILBAO

Correo electrónico del primer firmante: ISABEL.MORENORENTERO@OSKIDETZA.NET

## INTRODUCCIÓN:

El sarampión es una enfermedad infecciosa causada por un virus. Inicia con fiebre, catarro de vías respiratorias altas y enanema (manchas de Koplik). El diagnóstico de esta se realiza mediante la determinación de anticuerpos en sangre, en serología; técnicas de PCR, en microbiología molecular, y cultivo. No existe terapia específica para el tratamiento de la enfermedad, pero se puede prevenir mediante la vacunación. Se trata de una enfermedad grave en pacientes con defecto de inmunidad celular. El personal sanitario susceptible tiene un alto riesgo tanto de adquirir la infección como de transmitirla a los pacientes.

Durante el año 2011 hubo un aumento de los casos de sarampión en España, dando lugar a un aumento de las peticiones y al interés por conocer el estado inmunitario del personal sanitario.

## OBJETIVO:

Conocer qué proporción del personal sanitario se encuentra expuesta a padecer la enfermedad por no tener inmunidad frente al virus, natural o por vacunación; y conocer el número de casos de sarampión acaecidos durante el período estudiado.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se estudiaron los datos de serología de sarampión obtenidos entre los años 2000-2013 en el Hospital Universitario Basurto. Las determinaciones de los anticuerpos, tanto IgG como IgM, se realizaron mediante Enzimoimmunoanálisis (ELISA). Las determinaciones se realizaron de forma automatizada (TECAN), con reactivos de VIRCELL durante el período 2000-2012 y con EUROINMUN hasta finalizar el período estudiado.

## RESULTADOS:

Se realizaron un total de 1.743 peticiones de sarampión. De ellas, 7 peticiones (0,4%) respondían a un patrón de enfermedad aguda (sarampión): presentaban anticuerpos IgG negativos con anticuerpos IgM positivos. De estos 7 pacientes, 2 eran mayores de 24 años y los 5 restantes menores de 2 años.

Del total de las peticiones, 878 (50%) fueron solicitadas por Medicina de Empresa del Hospital, 93 (5,33%) peticiones realizadas por los servicios de Pediatría, Hospitalización y Urgencias. De otros centros hospitalarios se realizaron 142 (8,1%) solicitudes de sarampión: Hospital de Cruces (20), Hospital San Eloy (66) y Hospital de Santiago (56).

De las 873 personas estudiadas con edad conocida por el Servicio de Medicina de Empresa, 281 (32,19%) eran menores de 39 años y 592 (67,81%) eran mayores de 38. De los 878 trabajadores del hospital estudiados, 1 (0,11%) se encontraba sin estar cubierta frente a la infección. Se trataba de un varón de 26 años, que posteriormente fue vacunado.

De las 878 peticiones del Servicio de Medicina de Empresa 187 (21,4%) se realizaron en 2011 y 688 (78,3%) en 2012.

## CONCLUSIONES:

Aunque la vacuna del sarampión está incluida en el calendario vacunal del País Vasco desde el año 1975, es muy importante controlar la situación inmunológica del personal sanitario frente a esta infección, para evitar su diseminación entre el personal y los pacientes.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 170**

### DETECCIÓN DE FALSOS POSITIVOS DE UN ELISA PARA SÍFILIS. ¿ES NECESARIA SU CONFIRMACIÓN?

*Autor/a/s: ELOÍSA GONZÁLEZ GÓMEZ, ALEJANDRO BARBANCHO MARTÍN, M<sup>a</sup> ÁNGELES SÁNCHEZ DÍAZ, JESSICA BRESCIA NAVARRO*

*Centro de trabajo: HOSPITAL COSTA DEL SOL*

*Localidad: MARBELLA*

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

## INTRODUCCIÓN:

El diagnóstico de la sífilis ha mejorado en los últimos años por la introducción de nuevas técnicas de ELISA que permiten automatizarlo. Hasta hace unos años se realizaba con la detección de antígenos no treponémicos como RPR (Rapid Plasma Reagin) y treponémicos como TPHA (Treponema Pallidum Hemaglutinación) y FTA (Inmunofluorescencia Indirecta). Estas técnicas son muy manuales y no permiten hacer grandes cribados de población, pero podemos confirmar el diagnósti-

co y mediante las titulaciones, seguir la evolución de la enfermedad. Actualmente, tenemos disponibles tests de ELISA (Enzimoimmunoensayo) que permiten realizar grandes series de determinaciones totalmente automatizadas en poco tiempo. Con estas técnicas podemos detectar tanto Ig G como Ig M.

## OBJETIVOS:

El objeto de este estudio es determinar el porcentaje de falsos positivos que se obtienen con las técnicas de ELISA para el diagnóstico de la sífilis.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Hemos realizado la determinación de sífilis en 13.253 sueros enviados a nuestro laboratorio durante el año 2013 proveniente del Distrito Sanitario Costa del Sol, del cual el 78,71% proceden de Atención Primaria, siendo el resto de Atención Especializada del Hospital Costa del Sol (Consultas Externas, Urgencias y Hospitalización). El 63,36% corresponden al sexo femenino y el 36,64% al masculino. La edad media de los pacientes estudiados fue de 38 años.

A todas las muestras se les realizó el ELISA mediante el sistema automático Centauro (ADVIA Centaur® Syphilis (SYPH) Siemens), para la detección de anticuerpos Ig G e Ig M frente a Treponema Pallidum. Se siguieron las instrucciones del sistema al igual que para la interpretación de resultados, dándose como positivo cuando el valor de absorbancia es mayor a 1,10.

Todas las muestras que dieron un valor positivo por ELISA se confirmaron mediante RPR y TPHA, siguiendo las instrucciones del fabricante, realizándose en todas las positivas semicuantificación obteniéndose unos títulos que nos permiten interpretar los resultados. Se considera como positivo cuando el título de RPR es superior a 1/8, y para TPHA de 1/640.

## RESULTADOS:

Hemos obtenido un total de 385 (2,9%) muestras positivas (valor de absorbancia mayor a 1,10) por la técnica de ELISA. De éstas 219 (56,88%) muestras fueron negativas para RPR y TPHA, 74 (19,22%) fueron negativas o con títulos menores a 1/8 para RPR y un título < a 1/640 para TPHA. Todas estas muestras que suman un total de 293 (76,1%) se consideraron como negativas para sífilis.

Del total de muestras positivas para ELISA, 92 (23,9%), fueron positivas para RPR y TPHA a títulos considerados como positivos (para RPR mayor a 1/8 y para TPHA mayor a 1/640).

## CONCLUSIONES:

Con estos resultados podemos concluir que todas las determinaciones realizadas para el diagnóstico de sífilis mediante ELISA deben ser confirmadas por otras técnicas como RPR y TPHA para poder descartar los falsos positivos del ELISA, independientemente de los valores de la absorbancia que nos da la técnica.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 174**

### ERRORES EN LA FASE PREANALITICA DE COPROCULTIVOS EN EL HOSPITAL COMARCAL DE ANDÚJAR.

*Autor/a/s: María del Carmen Rodríguez López, Estrella Navarro Martín, Daniel Fabela Cantillo, María Jose de la Torre Calzada y Jose Miguel Díaz Iglesias.*

*Centro de trabajo: Hospital ALto Guadalquivir*

*Localidad: Andújar*

*Correo electrónico del primer firmante: mcrodriguezl@ephag.es*

## INTRODUCCIÓN:

La fase pre analítica en el laboratorio de microbiología es clave en el adecuado procesamiento de la muestra de heces para coprocultivo, con el fin de emitir resultados fiables para el paciente. El estudio de coprocultivo está indicado para la búsqueda de microorganismos causantes de gastroenteritis bacteriana y es una de las muestras mas frecuentes en microbiología.

## OBJETIVOS:

Detectar la frecuencia de incidencias y errores preanalíticos en muestras de heces recibidas en el hospital de Andújar desde Atención Primaria (AP) y del propio hospital en el intervalo de cuatro años.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Nuestros criterios de rechazo de muestras de heces para cultivo estuvieron recogidos en el manual de muestras de nuestro Laboratorio. Los requisitos para

la obtención de la muestra fueron recibirlas en recipiente estéril de boca ancha y cierre hermético, muestras de elección heces diarreicas (nunca heces formes) o pastosas.

Se recibieron coprocultivos procedentes de Atención Primaria y del hospital de Andújar. En el estudio se definieron indicadores de calidad para la fase pre analítica en muestras de heces, y fueron: Heces formes (H.F) muestra en recipiente inadecuado (M.R.I), falta muestra (F.M) y muestra derramada (M.D).

### RESULTADOS:

En la siguiente tabla se presentan los porcentajes por año, procedencia e indicadores de calidad.

HOSPITAL	REGISTRAS	H.F	M.R.I	F.M	M.D	RECHAZADAS
2010	338	12	5	2	1	20
2011	280	6	2	2	2	12
2012	390	25	9	3	1	38
2013	345	27	4	1		32
C.S	REGISTRAS	H.F	M.R.I	F.M	M.D	RECHAZADAS
2010	369	44	15	11	1	71
2011	278	32	19	12	11	74
2012	297	75	9	13	2	99
2013	419	55	16	1	1	72

El tipo de incidencia mas numerosa fué en el año 2012 procedente de Atención Primaria, donde se detecto un 25.25% de muestras heces formes, para notando una considerable reducción de esta misma en el año siguiente y un 7.82% de muestras de heces formes en el año 2013 en nuestro hospital.

### CONCLUSIÓN:

Nuestros resultados ponen claramente de manifiesto el problema que supone la recepción de heces formes. Destacar que en el diagnostico microbiológico como en cualquier proceso en cadena, la fase preanalítica es clave para dar un buen servicio a nuestros pacientes y aumentar nuestro grado de satisfacción.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 176**

### DETECCIÓN DE TRICHOMONAS VAGINALIS POR EL SISTEMA DE PCR ANYPLEX™ II

*Autor/a/s: Edelia Jiménez Suárez, Marta María Santana García, Georgina Hernández Díaz, Ana María Cabrera Benítez, Hanan Zarrif, Fernando Cañas Hernández.*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO INSULAR DE GRAN CANARIAS*

*Localidad: LAS PALMAS DE GRAN CANARIA*

*Correo electrónico del primer firmante: lidia1570@gmail.com*

### INTRODUCCIÓN:

Trichomonas vaginalis (TV) es un protozoo flagelado causante de una de las enfermedades más importantes de transmisión sexual en humanos. La microscopía óptica ha sido la técnica más utilizada para su identificación, por ser rápida y económica, pero es poco sensible. Contar con un medio de diagnóstico rápido, sensible y específico es de suma importancia sobre todo en el caso de los hombres.

### OBJETIVO:

La identificación de T.vaginalis mediante el sistema de PCR Anyplex™ II de exudados endocervicales y uretrales.

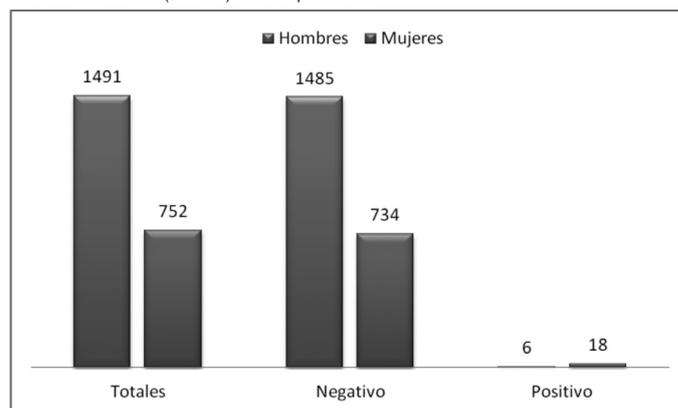
Conocer la distribución por sexo de este patógeno.

**MATERIAL Y MÉTODO:** Se realizó un estudio retrospectivo de Trichomonas vaginales (TV) aisladas en el Servicio de Microbiología durante el periodo de un año (Enero a Diciembre de 2013). Los exudados endocervicales y uretrales se tomaron con hisopos estériles y en el caso de los endocervicales con la ayuda de espéculos también estériles. La detección del protozoo se realizó mediante el sistema de PCR Anyplex™ II (Seegene).

### RESULTADOS:

Durante el periodo de estudio se diagnosticaron 2243 muestras de exudados endocervicales y uretrales, de las cuales 752 (33.52%) correspondieron a mujeres y 1491 (66.47%) a hombres.

De las 752 muestras 18 (2.39%) fueron positivas y de las 1491 de muestras de sexo masculino 6 (0.40%) fueron positivas.



### CONCLUSIÓN:

La prueba STI-7 Detección de Anyplex™ II es una técnica de alta sensibilidad para el diagnóstico de la tricomoniasis en el hombre donde es difícilmente diagnosticada.

La tricomoniasis es más frecuente en mujeres que en hombres.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 177**

### COMPARACION DE TRES METODOS PARA LA IDENTIFICACION DE LEVADURAS POR ESPECTOFOTOMETRIA DE MASAS (MALDI-TOF)

*Autor/a/s: Valderrama Moral, Francisco Antonio; Ortega Perez, Isabel; Ramos Gutierrez, Epifanio; María del Carmen García García*

*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 diagnostico microbiológico si lo comparamos con los métodos bioquímicos clásicos. Con respecto a las levaduras, esto es importante debido a que para la identificación via API 20 C Aux BioMerieux tarda 48 horas.

### OBJETIVOS:

Evaluar tres métodos de análisis mediante el sistema MALDI-TOF aplicados a distintas levaduras.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

El estudio se realizó sobre 100 aislamientos de levaduras. Los métodos usados son:

- Extracción en placa con ácido fórmico: Poner la colonia sobre la placa porta muestras del MALDI-TOF y añadir 1 ml de ácido fórmico al 100%, al secarse se añade 1 ml de matriz (ácido α-ciano-4-hidroxicinámico 2,5 mg; 250 ml ácido trifluoroacético 2,5% y acetonitrilo 50% en agua destilada calidad HPLC)
- Extracción en placa con ácido fórmico y acetonitrilo: Poner la colonia sobre la placa porta muestras del MALDI-TOF y añadir 1 ml de ácido fórmico al 100%, al secarse se añade 1 ml de acetonitrilo. Al secarse se añade 1 ml de matriz
- Extracción de proteínas: 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 2 minutos. Se retira el sobrenadante y se vuelve a centrifugar. Se quita el sobrenadante. Se deja el eppendorf abierto 10 minutos para que los restos de etanol se evaporen. Según la cantidad de sedimento se añaden de 10 a 50 ml de ácido fórmico al 100% y se homogenizan con el sedimento. Después se añade la misma cantidad de acetonitrilo que de ácido fórmico y se homogeniza. Se centrifuga 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 α-ciano-4-hidroxicinámico 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.

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 >2,000 y <2,300 corresponden a identificaciones seguras de género y probables de especie, scores >1,700 y <2,000 como probables de género y scores <1,700 como identificación no fiable.

#### RESULTADOS:

Se identificaron 100 levaduras, cuyos resultados de score medio son los siguientes:

- Extracción en placa con AF: 1,80 ( $\pm 0,33$ )
- Extracción en placa con AF y ACN: 1,74 ( $\pm 0,41$ )
- Extracción de proteínas: 2,22 ( $\pm 0,35$ )

Como podemos observar los métodos de extracción en placa tanto con AF como el de AF+ACN dan buenos resultados a nivel de género, mientras que si hacemos una extracción de proteínas en eppendorf los resultados son identificaciones seguras de género y probables de especie.

#### CONCLUSIONES:

La identificación de levaduras se ve mejorada por el método de extracción de proteínas en eppendorf MALDI-TOF. Aunque los otros dos métodos presentan scores más bajos también podrían funcionar ya que, aunque el fabricante propone scores 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.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 178**

#### MÉTODOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE MICOBACTERIAS POR ESPECTROFOTOMETRIA DE MASAS MALDI-TOF

*Autor/a/s: Valderrama Moral, Francisco Antonio; Ortega Pérez Isabel; Ramos Gutierrez, Epifanio; María del Carmen García García*

*Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario 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 las micobacterias. La identificación mediante MALDI-TOF se basa en la estudio de la huella proteica de la micobacteria. Se han propuesto varias técnicas de extracción de proteínas para la identificación por MALDI-TOF.

#### OBJETIVO:

El objetivo de este trabajo es evaluar una nueva técnica de extracción de proteínas para identificar las micobacterias.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se han estudiado 24 aislamientos de micobacterias del servicio de microbiología del Hospital Clínico Universitario de Valladolid, cultivadas en medio Lowenstein Jensen a 37°C, con un tiempo medio de 21 días con el objetivo de obtener una cantidad suficiente de colonias para su identificación mediante MALDI-TOF.

Las cepas se procesan según el protocolo del fabricante (protocolo base) y tres variantes del mismo.

- Protocolo base: Se emulsiona en un tubo eppendorf con 300 ml de agua destilada calidad HPLC las micobacterias en una campana de bioseguridad. Se inactivan por calor durante 30 minutos a 95°C en un termobloque. Agitar en vortex y añadir 900 ml de etanol absoluto y agitar en vortex. Centrifugar a 14000 r.p.m. durante 2 minutos y eliminar el sobrenadante con una pipeta. Agregar 500 ml de agua HPLC, mezclar y agitar en vortex. Centrifugar 2 minutos a 14000r.p.m. y eliminar el sobrenadante con una pipeta. Agregar 50 ml de agua HPLC agitar en vortex y añadir 1200 ml de etanol al 97% previamente congelado a -20°C y mezclar bien. Centrifugar a 14000r.p.m. durante 2 minutos y eliminar el sobrenadante. Dejar secar el sedimento 2 minutos a temperatura ambiente. Según la

cantidad de sedimento se añade de 10 ml a 50 ml de acetonitrilo (ACN) y se agita en vortex. Se añaden 100 mg de perlas de vidrio estériles al eppendorf y se vuelve a agitar en vortex 1 minuto. SE añade la misma cantidad de ácido fórmico al 70% (AF70%) que la de ACN y se agita en vortex y se centrifuga 2 minutos a 14000. Se deposita 1 ml de sobrenadante en 3 posiciones de la tarjeta y al secarse se añade 1 ml de matriz, se deja secar y se procede a su lectura.

- Variante 1: Tras echar 1 ml de sobrenadante en las tres posiciones de la tarjeta, una vez que está seco se añade 1 ml de AF100% y al secarse se le añade la matriz. Se deja secar y se procede a su lectura.
- Variante 2: Tras añadir el ACN y el AF70% al eppendorf se congelan a -80°C durante dos horas. Tras esto se agita 1 minuto en vortex, se centrifuga 2 minutos a 1400r.p.m. y se añaden 1 ml en 3 posiciones de la tarjeta. Al secarse se añade la matriz y cuando está seco se procede a su lectura.
- Variante 3: Siguiendo la variante 2 una vez depositado en la placa portamuestras los 3 ml de del sobrenadante, cuando se sequen se añaden 1 ml de AF100% en cada uno y al secarse 1 ml de matriz. Una vez seco se procede a la lectura de las muestras.

#### RESULTADOS:

Se identificaron 24 micobacterias, cuyos resultados de score medio son los siguientes:

- Protocolo base: 1,49 ( $\pm 0,89$ )
- Variante 1: 1,31 ( $\pm 0,92$ )
- Variante 2: 1,94 ( $\pm 0,67$ )
- Variante 3: 1,57 ( $\pm 0,79$ )

Como podemos observar en las medias de score de los resultados, tanto el protocolo base como la variante 1 y la variante 3 corresponden con identificaciones poco fiables. Mientras que tras la congelación con la variante 2 el score medio casi llega a 2 permitiendo una buena identificación de género y especie.

#### CONCLUSIONES:

La adición de la congelación al Protocolo base (recomendado por el fabricante), mejora los scores medios de identificación, pasando a obtener una buena identificación de género y especie.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 179**

#### ESTUDIO COMPARATIVO DE 3 MÉTODOS PARA LA DETECCIÓN DEL CLOSTRIDIUM DIFFICILE Y SUS TOXINAS A/B EN MUESTRAS DE HECES.

*Autor/a/s: Estrella Navarro Martín, María Jose de la Torre Calzada, Daniel Fatela Cantillo, María del Carmen Rodríguez López y Jose Miguel Díaz Iglesias.*

*Centro de trabajo: Hospital Alto Guadalquivir*

*Localidad: Andújar*

*Correo electrónico del primer firmante: enavarro@ephag.es*

#### INTRODUCCIÓN:

El espectro de enfermedades denominadas infección por Clostridium Difficile (ICD) cursa con diarrea no complicada y colitis pseudomembranosa, megacolon tóxico y, en ocasiones, sepsis e incluso la muerte. En 1978 se identificó dicho agente como importante causa de colitis pseudomembranosa asociadas a antibióticos. La utilización de antibióticos de amplio espectro es el factor más determinante para la aparición de esta enfermedad.

#### OBJETIVOS:

Evaluar la capacidad diagnóstica y de detección de toxina A/B en muestras de heces de 3 métodos en cribado secuencial en Hospital de Andújar.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se analizaron muestras de heces de 18 pacientes recogidas desde el 23/11/2012 al 14/05/2013. Fueron heces no formes de pacientes con diarrea de posible origen infeccioso y resultados negativos para enteropatógenos comunes. Independientemente de la edad, uso de antibiótico previo, comorbilidad e inicio de diarrea.

Se optó por un protocolo diagnóstico en dos pasos:

1. Cribado con test de GDH (Glutamato deshidrogenasa)

2. Estudio de casos positivos en paso previo por métodos de detección de toxina A y toxina B mediante test rápidos (lectura en 20 minutos).

Se evaluaron tres ensayos para la detección de GDH de las casas comerciales ATOM (República Checa), leti (Barcelona, España) y RAL (Barcelona, España) y cuatro para la detección de toxinas A/B de las casas comerciales ATOM (República Checa), leti (Barcelona, España), modificación de ensayo previo leti y RAL (Barcelona, España) que fueron comparados con los resultados de nuestro laboratorio de referencia.

#### RESULTADOS:

Se detectaron 4 positivos para el test de cribado de GDH (22.2%). Con nuestro método actual (un solo paso) en Laboratorio de referencia (se registraron tres negativos y un solo positivo en toxinas A/B). En la siguiente tabla se pueden observar los resultados por caso:

Caso	Método A	Método B	Método C	Método uso
1	Tox A: -	Tox A: -	Tox A/B: +	Tox A/B: -
	Tox B: +	Tox B: +		
2	Tox A: +	Tox A: +	Tox A/B: +	Tox A/B: +
	Tox B: +	Tox B: +		
3	Tox A: -	Tox A: -	Tox A/B: -	Tox A/B: -
	Tox B: +	Tox B: +		
4	Tox A: -	Tox A: +	Tox A/B: +	Tox A/B: -
	Tox B: +	Tox B: +		

#### CONCLUSIÓN:

El método de referencia antiguo falló en la detección de las toxinas en el 75% de los casos positivos, probablemente por el transporte de la muestra que afectaría la viabilidad de las toxinas en la muestra. De los tres métodos evaluados el que mejor perfil presentó fue el método A que permitía el análisis diferencial de las 2 toxinas.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 181**

#### RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE CAMPYLOBACTER SPP. EN HOSPITAL DE ANDÚJAR.

*Autor/a/s: Estrella Navarro Martín, María del Carmen Rodríguez López, Daniel Fabela Cantillo, María Jose de la Torre Calzada y Jose Miguel Díaz Iglesias.*

*Centro de trabajo: Hospital ALto Guadalquivir*

*Localidad: Andújar*

*Correo electrónico del primer firmante: enavarro@ephag.es*

#### INTRODUCCIÓN:

Campylobacter es un género perteneciente a la familia Campylobacteraceae. Son bacilos gram negativos con forma de coma y móviles por la presencia de uno o dos flagelos polares. La campilobacteriosis es una enfermedad entérica bacteriana aguda que se caracteriza por diarrea, dolor abdominal, malestar, fiebre, náuseas y vómitos. Es la primera causa de diarrea originada en el ámbito doméstico. Por lo común no dura más de 10 días. Es un agente habitual de enterocolitis en humanos y el tratamiento con antimicrobianos sólo está recomendado a los casos graves y/o prolongados.

#### OBJETIVOS:

Evaluar la susceptibilidad in vitro de Campylobacter spp, en aislamientos en muestras de heces durante siete meses en Andújar.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

34 cepas fueron aisladas en estudios de heces procedentes de coprocultivos sembrados en el laboratorio de microbiología del hospital de Andújar. Los aislamientos fueron recuperados en placas de Agar Campylobacter de la casa comercial bioMérieux (Francia). Los medios de cultivo fueron incubados a 42°C durante 48 horas en ambiente microaerófilo. Se realizó una batería de pruebas para la identificación, entre ellas la oxidasa de la casa comercial bioMérieux y la catalasa, además de la tinción de gram. Para el estudio del antibiograma se uso el método disco difusión en Mueller Hinton sangre de la casa comercial bioMérieux. El inóculo utilizado con una concentración de 0.5 Mac Farland incubado durante 24 horas en ambiente microaerófilo a 37 °C. Los discos de antibióticos de la casa

comercial y las concentraciones empleadas fueron respectivamente: Cefalotina 30 µg, tetraciclina 30 µg, cotrimoxazol (sulfamethoxazole 23.75 µg/ trimethoprim 1.25µg), ampicilina 10 µg, fosfomicina 200 µg (fosfomicin + glucose 6 phosphate), cloranfenicol 30 µg todas de la casa comercial bioMérieux y discos de tobramicina 10 µg, nalidixico 30 µg, eritromicina 15µg y ciprofloxacino 5 µg de la casa comercial Becton Dickinson, USA.

#### RESULTADOS:

Los marcadores de resistencia antimicrobiana evaluados se centraron en los siguientes grupos de antimicrobianos con especial atención a eritromicina 15 µg, tetraciclina 30 µg, ciprofloxacino 5 µg y ampicilina 10 µg. De las 34 cepas evaluadas por el método de disco difusión en agar, 25 cepas (73.5% de las cepas) fue resistente a ciprofloxacino. No se detectó resistencia a eritromicina, 23 cepas (67.6% de las cepas) fueron resistentes a tetraciclina y 12 cepas (35.29% de las cepas) fueron resistentes a ampicilina.

#### CONCLUSIÓN:

La tasa de resistencia a ciprofloxacino y tetraciclina en nuestra serie fue elevada.

Es importante realizar la vigilancia de resistencia antimicrobiana en Campylobacter spp en nuestro medio y evaluar la prescripción de aquellos antimicrobianos más utilizados empíricamente en el tratamiento de la enterocolitis bacteriana.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 189**

#### LEISHMANIASIS EN EL COMPLEJO HOSPITALARIO DE JAEN

*Autor/a/s: Jimenez Avila, Rosario; Heredia Galan, Maria Angeles; Quesada López, Ana María.*

*Centro de trabajo: Complejo Hospitalario de Jaén*

*Localidad: Jaén*

*Correo electrónico del primer firmante: rosariojimenezavila1996@gmail.com*

#### INTRODUCCIÓN:

La leishmaniasis es una enfermedad parasitaria considerada como zoonosis con el perro como vector, que se transmite por la picadura del mosquito flebotomo y se caracteriza por fiebre, hepatomegalia y esplenomegalia, linfadenopatías, anemia y debilidad progresiva; la forma endógena de nuestro país es la Leishmaniasis infantum.

La infección por Leishmania se puede presentar con leishmaniasis cutánea, mucocutánea y la mas grave con leishmaniasis visceral o Kala-azar que puede llegar a producir la muerte

Antes de la aparición del VIH se producía generalmente en niños (de aquí su nombre). Actualmente, los casos humanos se han elevado paralelamente al número de personas inmunodeprimidas por el SIDA u otras causas, siendo por tanto el mayor grupo de riesgo.

#### OBJETIVOS:

El objetivo de este estudio es describir los casos de de leishmaniasis en pacientes adscritos a nuestro hospital durante el año 2013.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Las determinaciones realizadas en suero son las más utilizadas. Hemos realizado un estudio retrospectivo de las muestras de suero recibidas en nuestro servicio de microbiología durante el año 2013.

En nuestro laboratorio realizamos la técnica de ELISA, de Vircell®, para el diagnóstico indirecto IgG + IgM en muestras de suero ó plasma.

#### RESULTADOS:

En el año 2013 hemos realizado la detección de anticuerpos en 99 muestras recibidas en nuestro servicio, de las que 86 fueron negativas y 13 positivas lo que supone 13.13%, siendo mas frecuente en la edad comprendida entre 15-65 años (7 casos 53.84%), 4 casos en población pediátrica (<15 años, 30,77%) y 2 casos en pacientes >65 años.

Los pacientes adultos procedían de los servicios de Enfermedades Infecciosas (2), Hematología clínica (3), Cardiología (1) y Centro penitenciario de Jaén(3)

## CONCLUSIONES:

Antes de la aparición del VIH se producía generalmente en niños (de aquí su nombre). Actualmente, los casos humanos se han elevado paralelamente al número de personas inmunodeprimidas por el SIDA u otras causas, siendo por tanto el mayor grupo de riesgo.

En el año 2011 se declararon en Andalucía 34 nuevos casos. En el 2013 nosotros hemos detectado 13 nuevos casos lo que implica una alta incidencia leishmiasis en nuestra provincia.

Resumen Comunicación Científica -PANEL

Número: 191

### ESTUDIO DEL GENOTIPO CIRCULANTE DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN EXUDADOS RECTALES EN UN HOSPITAL DE AREA DE SEVILLA DURANTE LOS AÑOS 2011- 2013.

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 el periodo 2011-2013 en nuestra área.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se incluyeron en el estudio un total de 372 exudados rectales (158 muestras en 2011; 94 en 2012 y 120 en 2013) 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 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	AÑO 2013
TOTAL CASOS	158	94	120
NEGATIVAS (%)	50 (31,6)	27 (28,7)	27 (22,5)
POSITIVAS (%)	108 (68,4)	67 (71,3)	93 (77,5)
INFECCIONES ÚNICAS			
VPH16 (%)	8 (5,1)	10 (10,6)	7 (5,8)
VPH18 (%)	1 (0,6)	1 (1,1)	3 (2,5)
VPH-AR (%)	62 (39,2)	34 (36,2)	48 (40)
TOTAL (%)	71(44,9) 45 (47,9)	58 (48,3)	
INFECCIONES MIXTAS			
VPH16/VHP-AR (%)	23 (14,6)	10 (10,6)	22 (18,3)
VPH16/VPH18 (%)	1 (0,6)	0 (0)	0 (0)
VPH18/VPH-AR (%)	5 (3,1)	6 (6,4)	4 (3,3)
VPH16/VPH18/VPH-AR (%)	8 (5,0)	6 (6,4)	9 (7,5)
TOTAL (%)	37 (23,4)	22 (23,4)	35 (29,2)

#### CONCLUSIONES:

La prevalencia de VPH positivos ha aumentado en 2013 con respecto a años anteriores.

Las infecciones mixtas aumentaron en 2013 llegando al 29.2% del total de muestras analizadas.

La prevalencia de VPH16, tras subir en 2012, vuelven a descender en 2013, pero con valores superiores a los obtenidos en 2011. El VPH18 y VPH de alto riesgo continúan aumentando en los tres años de estudio.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 192

### ESTUDIO DE NEUMONÍAS EN EL A.G.S. DE OSUNA

Autor/a/s: GUERRA MONTAÑO, AMPARO; ESCALERA GARCÍA, DOLORES; BERMÚDEZ MÉRIDA, JOSEFA; GÓMEZ SÁNCHEZ, MARÍA DEL CARMEN

Centro de trabajo: HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DE LA MERCED

Localidad: OSUNA

Correo electrónico del primer firmante: aguerram@hotmail.es

#### INTRODUCCIÓN:

La infección por Legionella pneumophila y Streptococcus pneumoniae son los principales agentes etiológicos causantes de neumonía adquirida en la comunidad. Son infecciones graves y es importante un diagnóstico rápido. La detección de antígeno en orina de Legionella pneumophila y Streptococcus pneumoniae es una de las técnicas más utilizadas en el laboratorio de urgencias para el diagnóstico de estas infecciones

#### OBJETIVO:

Estudiar la incidencia de Ag Legionella pneumophila y Streptococcus pneumoniae en orina en el A.G.S. de Osuna a lo largo del año 2013.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se ha utilizado un ensayo de membrana inmucromatográfica BinaxNOW® que permite detectar antígeno soluble en orina (membrana recubierta con anticuerpo de conejo específico) Ag Legionella pneumophila y Ag del Streptococcus pneumoniae respectivamente.

La muestra que se necesita para estas determinaciones es orina (10 ml) en recipiente estéril.

#### RESULTADOS:

Durante el periodo de estudio se analizaron 310 muestras de orina para la detección del Ag Legionella pneumophila y 332 muestras para el Ag Streptococcus pneumoniae.

De las 310 muestras de orina para detectar el Ag Legionella pneumophila 52 procedían de planta y 258 de urgencias. Los resultados positivos fueron 2 que corresponde a (1.55%) y

Los negativos 308 que corresponden a (99.35%)

De las 332 muestras de orina para detectar el Ag de Streptococcus pneumoniae 49 procedían de planta y 283 de urgencias. Los resultados positivos fueron 41 que se corresponde con el (12.3%) y los resultados negativos fueron 291 que corresponden a (87.6%).

#### CONCLUSIONES:

Son dos técnicas rápidas, sencillas y de fácil interpretación.

La incidencia de los antígenos positivos de Legionella pneumophila y Streptococcus pneumoniae es muy baja (1.5% y 12.3% respectivamente).

El origen de las muestras es principalmente de urgencias.

Para el estudio de sensibilidad es necesario el aislamiento del microorganismo en muestras respiratorias.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 198

### CONFIRMACIÓN DE VIH MEDIANTE WESTERN BLOT EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO BASURTO.

Autor/a/s: M<sup>a</sup> BEGOÑA FERNANDEZ PALACIOS, ISABEL MORENO RENTERO, M<sup>a</sup> BELEN SANTOS MONTEJO, M<sup>a</sup> ASUNCIÓN SANTAMARIA CANO, PALOMA LIENDO ARENZANA, RAMÓN CISTERNA CANCER

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO BASURTO

Localidad: BILBAO

## INTRODUCCIÓN:

El Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) es un lentivirus, causante del SIDA. El VIH sólo se puede transmitir a través de fluidos corporales que poseen una alta concentración viral. La prueba más habitual para la detección de VIH es el ELISA (enzimoinmunoanálisis). Ésta detecta la presencia de anticuerpos específicos que produce el organismo en presencia del virus. En países donde la prevalencia de la enfermedad es baja, un resultado positivo, mediante ELISA, debe ser confirmado con una técnica de western blot (WB). En países donde la prevalencia es alta, no será necesaria esta confirmación. Otra prueba también utilizada es la amplificación de ácidos nucleicos (TANN).

## OBJETIVO:

Conocer, en nuestra área de salud, la población a la que se solicita pruebas de confirmación de VIH mediante western blot durante el año 2013.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se recogieron los resultados de las determinaciones de anticuerpos anti-VIH realizadas durante el año 2013 en el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Basurto. La determinación de los anticuerpos se realizó en el ADVIA CENTAUR, aparato que utiliza tecnología de quimioluminiscencia directa. Las confirmaciones de VIH se realizaron en el AUTOLIPA, mediante western blot.

## RESULTADOS:

Durante el año 2013 se realizaron 18.826 determinaciones de anticuerpos anti-VIH. De las 18.826 peticiones, 262 (1,39%) fueron reactivas y el resto, 18.564 (98,61%), no reactivas o indeterminadas. Se realizó confirmación mediante WB a 298 muestras. De las 298 determinaciones, 227 (76,17%) correspondían a varones y 71 (23,83%) a mujeres. Se conocía la edad de 249, siendo la edad media 34,26 años (rango, 0 - 90 años). La edad media fue de 36,83 años (rango, 0 - 90 años) entre los varones y 26,33 años (rango, 0 - 63 años) en las mujeres. Por edades 32 (12,85%) correspondían a niños menores de 5 años; 143 (57,43%) a jóvenes de entre 15 - 44 años, 68 (27,31%) entre 45 - 64 años y 6 (2,41%) a mayores de 65 años. De las 298 peticiones confirmadas, 106 habían sido negativas y se les realizó la confirmación mediante WB por petición expresa del Servicio solicitante. De estas 106 peticiones negativas, 91 (85,85%) se confirmaron como negativas, y 15 (14,15%) fueron indeterminadas. De las 192 positivas en CENTAUR, 178 (92,71%) se confirmaron positivas, 6 (3,13%) fueron negativas y 8 (4,17%) resultaron indeterminadas.

## CONCLUSIÓN:

- 1.- La mayoría de las peticiones correspondían a varones.
- 2.- La edad media de los varones fue superior a la de las mujeres.
- 3.- El grupo de edad más frecuente fue el de 14 a 45 años.
- 4.- El VPP fue del 92,70%.

*Resumen Comunicación Científica -PANEL*

**Número: 208**

## INCORPORACIÓN DE PCR A TIEMPO REAL COMO PARTE DE UN ALGORITMO DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN ASOCIADA A CLOSTRIDIUM DIFFICILE

*Autor/a/s: Ruiz Pereda Luz María, Vallejo Álvarez Sara, Heredero Muñoz Ana María, Arevalo Ana, Domínguez-Gil González Marta*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario Río Hortega*

*Localidad: Valladolid*

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

## INTRODUCCIÓN/OBJETIVO:

*Clostridium difficile* es el patógeno nosocomial que con más frecuencia se identifica en pacientes con diarrea y colitis asociada a antibióticos. En el presente estudio se describen los métodos de detección de *Clostridium difficile* en hospital general para el diagnóstico de la infección asociada a *Clostridium difficile* (IACD).

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realizó un estudio de las muestras de heces diarreicas recibidas en el Servicio de Microbiología de HURH, de pacientes con sospecha de IACD durante los años 2012 y 2013. Para el diagnóstico de IACD se emplea como parte del algoritmo

diagnóstico, un screening rápido y simultáneo de antígeno de Glutamato deshidrogenasa (Ag-GDH) y toxinas A y B (Techlab *Clostridium difficile* Quick Check Complete®). Los casos discordantes (Ag-GDH positivo vs toxinas A/B negativas) se confirmaron mediante una PCR a tiempo real (Xpert® *Clostridium difficile*).

## RESULTADOS:

En los dos años que incluyó este estudio, se obtuvieron los siguientes resultados: En 882 muestras (88,2%) tanto GDH como toxina resultaron negativas. En 60 muestras (6%) GDH y toxina fueron positivas y en 58 muestras de heces (5,8%) se obtuvo resultado discordante, GDH positiva y toxina negativa. En 55 muestras se realizó PCR, siendo 41 de estas positivas mediante PCR

## CONCLUSIONES:

Se estudiaron un total de 1.000 muestras recibidas para diagnóstico de IACD durante los años 2012 y 2013, de la cuales, el 88,2% fueron negativas tanto para GDH como para toxina y el 6% fueron positivas para GDH y para toxina.

En el 5,8 % de los casos que resultaron discordantes (GDH positiva y toxina negativa) se realizó confirmación mediante PCR a tiempo real. Al incluir esta técnica se concluyó que el 4,1% del total de las muestras fueron falsos negativos por la técnica rápida, llegando a ser falsos negativos el 74,54 % de las muestras discordantes en las que se realizó PCR. Lo que confirma la necesidad de realización de PCR en todos los casos discordantes ya que con la inclusión de esta técnica se ha aumentado el número de detecciones positivas para el mismo.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 214**

## COMPARACIÓN DE UNA TÉCNICA DE INMUNOCROMATOGRAFÍA PARA DIAGNÓSTICO RÁPIDO DE INFECCIÓN POR VIRUS INFLUENZA Y EL DIAGNOSTICO MOLECULAR

*Autor/a/s: Salvador Lorenzo, María José, María Domínguez, Bernardina, Clemente Aguilar, María del Mar, Sánchez Hernández, Francisco Javier.*

*Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario de Salamanca*

*Localidad: Salamanca*

*Correo electrónico del primer firmante: mariajo19@yahoo.es*

## INTRODUCCIÓN:

La gripe es una infección provocada por el virus Influenza que, cada año supone un importante problema de salud pública debido a las altas tasas de morbilidad que provoca.

Desde la pandemia del 2009 debida al nuevo serotipo de gripe A H1N1, se han mejorado las herramientas para el diagnóstico de este virus, se han comercializado numerosas técnicas de detección de antígenos cuya principal ventaja es la rapidez de obtención de resultados pero que adolecen de la sensibilidad suficiente, por lo que en ocasiones requieren la realización de otras técnicas diagnósticas como son las técnicas moleculares.

## OBJETIVO:

La finalidad de este estudio es comparar la sensibilidad de la inmunocromatografía (utilizada como prueba rápida de cribado) con una técnica de RT-PCR

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se han incluido todas las muestras que llegaron al laboratorio desde el 1 de Enero hasta el 12 de Febrero de 2014 con sospecha de gripe, A todas ellas se les realizó la inmunocromatografía para virus influenza A (ONE STEP influenza virus A/B/A (H1N1) pandemic rapid test, Standard diagnostic, INC) y aquellas muestras que pertenecían a pacientes ingresado se les realizó la detección de genoma viral mediante PCR (Real time Influenza A/H1N1, Roche.) para confirmar el diagnóstico.

## RESULTADOS:

Se procesaron 346 muestras por inmunocromatografía (ICT), y a aquellas que pertenecían a enfermos hospitalizados (185) se les realizó RP-PCR.

Los resultados se recogen en la tabla.

71 muestras fueron positivas por ICT. 20 de las mismas correspondían a pacientes ingresados y en todas ellas, la RT-PCR fue positiva. De las 165 muestras negativas por ICT de enfermos ingresados, 55 fueron positivas por RT-PCR. La inmunocromatografía utilizada mostró un sensibilidad del 26% con respecto a la PCR.

P.C.R		ICT		
		Positiva	Negativas	Total
	Positivas	20	55	75
	Negativas	0	110	110
	Total	20	165	185

**CONCLUSIONES:**

Las pruebas rápidas de detección de antígenos no se pueden utilizar como único método de diagnóstico de la gripe debido a la baja sensibilidad que presentan. Posiblemente, en parte esta baja sensibilidad de la ICT sea por el tipo de muestra que llega al laboratorio y la edad del paciente, ya que estas técnicas son más efectivas en aspirados nasofaríngeos (niños en los que hay mayor carga viral) que en frotis nasofaríngeos introducidos en medios de conservación de virus que se emplean en técnicas moleculares y en los que se diluye mucho la muestra para a la detección de antígeno.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 217

**SEROPREVALENCIA DE LA TOXOPLASMOSIS EN EMBARAZADAS, EN EL VALLES OCCIDENTAL.**

Autor/a/s: NAVARRO RUIZ, MARTA; RUIZ PEREZ, ANTONIA

Centro de trabajo: CATLAB

Localidad: Terrassa

Correo electrónico del primer firmante: manaru13@hotmail.com

**INTRODUCCIÓN:**

La toxoplasmosis es una zoonosis de distribución mundial causada por *Toxoplasma gondii*. Si la infección ocurre durante el embarazo puede dar lugar a una toxoplasmosis congénita que conlleva secuelas importantes. Para diseñar protocolos de prevención y diagnóstico, es útil conocer la prevalencia de esta infección en este grupo de población.

**OBJETIVOS:**

Averiguar la prevalencia de la infección y su evolución en el tiempo, en nuestra zona, el Vallés Occidental (Barcelona).

**MATERIAL Y MÉTODOS:**

Se realiza un estudio retrospectivo de los sueros de embarazadas remitidos al laboratorio para control de primer trimestre y sucesivos, utilizando exclusivamente la primera muestra recibida de cada paciente y eliminando todos los duplicados. El periodo del estudio abarca del año 2010 al 2013 inclusive, analizando los datos de cada uno por separado.

Las muestras se analizaron para la detección de IgG e IgM de toxoplasma mediante el test Elecsys, que utiliza el método ECLIA, de la marca Roche. El estudio de la avidéz y la comprobación de las IgM positivas se realizó mediante el equipo VIDAS, método ELFA, de la marca BioMérieux.

**RESULTADOS:**

IgG TOXOPLASMA

	2010	%	2011	%	2012	%		%
Indeterminada	12	0.2	18	0.3	21	0.4	13	0.2
Positiva	1.577	28.1	1.487	24.4	1.388	24.6	1.458	22.7
Negativa	4.017	71.7	4.596	75.3	4.243	75.0	4.946	77.1
Total	5.606		6.101		5.652		6.417	

Las IgM específicas fueron positivas o zona gris en 102 mujeres, el 0.43% de la población estudiada.

La presencia de IgG de alta avidéz nos permitió datar el inicio de la infección como anterior a la fecha del embarazo en 80 de estas mujeres, restaron 22 mujeres con una avidéz baja o intermedia que deben ser revisadas con mayor aporte de datos clínicos para discernir las que dieron lugar a una toxoplasmosis congénita.

**CONCLUSIONES:**

Se confirma la tendencia a la disminución de la seroprevalencia, ya vislumbrada en un estudio realizado en 1999, en nuestra misma zona.

Número: 218

**AUTOMATIZACIÓN EN EL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LA SÍFILIS. EIA VS CIA**

Autor/a/s: RUIZ PEREZ, ANTONIA; NAVARRO RUIZ, MARTA

Centro de trabajo: CATLAB

Localidad: TERRASSA

Correo electrónico del primer firmante: tonyiru@hotmail.com

**INTRODUCCIÓN:**

La automatización en la realización de las pruebas para el diagnóstico serológico de la sífilis, ha llevado a modificar el esquema tradicional de realizar en primer lugar alguna de las pruebas no treponémicas (p.e RPR), y continuar con las pruebas treponémicas (p.e. IgG o TPPA). En su lugar se realiza primero una prueba treponémica de IgG y en las positivas se estudia el RPR. Ello puede llevar a resultados discordantes y hace necesario la confirmación de la prueba treponémica con otra diferente.

**OBJETIVOS:**

Se realiza un estudio prospectivo y secuencial en el tiempo, comparando una prueba treponémica de IgG por EIA y otra prueba con idénticas propiedades pero por CIA, para comprobar si existe alguna disminución en el número de resultados falsamente positivos en la detección de IgG anti-treponema.

El estudio realizado también nos debe permitir conocer la seroprevalencia de sífilis en nuestra zona.

**MATERIAL Y MÉTODOS:**

Desde enero de 2013 al 15 de julio de 2013 se realizaron a 10271 sueros consecutivos de pacientes diferentes, y sin contabilizar repeticiones, una prueba treponémica mediante la detección de IgG anti-treponema por EIA (Captia Syphilis de Trinity Biotech). A las muestras con resultado positivo se les realizó una prueba no treponémica de RPR (RPR reditest de BIODIA S.A.) y finalmente en los casos con resultados discrepantes entre ambas pruebas se les realizó una TPPA (Serodia-TP-PA, Fujirebio Inc.).

A este grupo lo denominaremos A, para simplificar las explicaciones.

De 16 de julio del 2013 al 31 de diciembre de 2013 se procedió de igual forma con 7657 nuevos sueros pero se sustituyó la prueba de EIA por una prueba de CIA (Liaison Treponema Screen. DiaSorin). A este grupo lo denominaremos B.

En ninguno de los dos grupos se consideraron como resultados positivos, los resultados equívocos o zona gris.

**RESULTADOS:**

En el grupo A se obtuvieron 174 resultados positivos para IgG anti-treponema, de los cuales 80 (45.97%) resultaron negativos en el RPR y se les realizó TPPA, que fue negativa en 17 (9.77%).

En el grupo B se obtuvieron 130 resultados positivos para IgG anti-treponema, de los cuales 51 (39.24%) fueron negativos en el RPR y se les realizó TPPA, que resultó negativa en 6 muestras

(4.61%).

La seroprevalencia global en todo el periodo fue de 1.56%

**CONCLUSIONES:**

Nuestros resultados indican que la técnica por CIA, para la detección de IgG anti-treponema, resulta más específica que la técnica por EIA.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 220

**VALIDACION DEL PROCEDIMIENTO DE DIGESTION CON AGITADOR MAGNETICO(REGLAMENTO 2075/2005)PARA EL ESTUDIO DE TRIQUINA EN CARNES**

Autor/a/s: SÁNCHEZ HERNÁNDEZ FCO JAVIER

Centro de trabajo: LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA SALAMANCA

Localidad: SALAMANCA

Correo electrónico del primer firmante: (javisanher@yahoo.es)

## INTRODUCCIÓN:

La triquinosis es una parasitosis cuyo agente etiológico es el nematodo *Trichinella spiralis*, que infecta al hombre cuando este ingiere carne contaminada con quistes que contienen larvas viables del parásito. Esta parasitosis es de declaración obligatoria y parasita mayoritariamente al cerdo y a otros animales como son el jabalí, el caballo. EL Reglamento 2075/2005 de la Comisión Europea establece el método de digestión de muestras colectivas con utilización de un agitador magnético como método recomendado para realizar el control de presencia de triquina en carne.

## OBJETIVO:

Realizar un estudio para confirmar la validez del método de digestión con agitador magnético en nuestro laboratorio para el examen parasitológico de triquina en carnes. Los resultados obtenidos para aceptar el método como válido deberán ser: Sensibilidad  $\geq 95\%$ , Especificidad  $\geq 95\%$  Eficacia  $\geq 95\%$  Falsos positivos  $\leq 5\%$ . y Falsos Negativos  $\leq 5\%$ .

## MATERIALES Y MÉTODOS:

El estudio de validación se realiza sobre tres matrices:

- Cerdos domésticos
- Jabalíes
- Caballos

Y con dos niveles; un nivel en el que trabajamos con 50g de muestra, y otro con 100g de muestra.

Ensayos	Nivel	Cerdo	Jabali	Caballo
50g	Sin contaminar	10	10	10
50g	Contaminación 0,1g de rata parasitada	10	10	10
50g	Contaminación con larvas libres	10	10	10
100g	Sin contaminar	10	10	10
100g	Contaminación 0,1g de rata parasitada	10	10	10
50g	Contaminación con larvas libres	10	10	10

## RESULTADOS:

Tras la realización de las 180 digestiones, (60 porcada una de las 3 matrices), nuestros resultados fueron:

- Sensibilidad: 100% (Proporción de muestras que contienen el parásito investigado y responde positivamente al método).
- Especificidad: 100% (Proporción de muestras que no contiene el microorganismo investigado y responde negativamente al método)
- Eficacia: 100% (Cociente entre la suma de verdaderos positivos y verdaderos negativos y el total de muestras analizadas)
- Falsos positivos: 0%
- Falsos negativos: 0%

## CONCLUSIONES:

Según los resultados obtenidos, consideramos el método VALIDO para la detección de larvas de triquinas en carne fresca por digestión con utilización de un agitador magnético.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 235**

### ESTUDIO DE LA CORRELACION ENTRE LOS RESULTADOS DE LA SEROLOGÍA DE LA SÍFILIS Y EL CONFIRMATORIO EN EL LABORATORIO CLÍNICO DEL CAPM DE TARRAGONA.

*Autor/a/s: Criado Najar Inmaculada, Luceño Castilla Yolanda, Guerrero Hormiga Vanesa, Dorado Cabello David.*

*Centro de trabajo: Lab. Clínic ICS Camp de Tarragona, Hospital Joan XXIII*

*Localidad: Tarragona*

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

## INTRODUCCIÓN:

La sífilis es una enfermedad infecciosa sistémica cuyo agente casual es el *Treponema pallidum*, miembro del orden Spirochaetales y pertenece a la familia de las Spirochataceae género *Treponema*. Se adquiere por contacto directo, generalmente sexual, con lesiones que contengan treponemas y por vía transplacentaria ocasionando una sífilis congénita. Sólo el hombre es huésped conocido.

## OBJETIVO:

El objetivo de este estudio es valorar cual es el punto de corte de la serología en el que el confirmatorio sea positivo.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Estudio retrospectivo sobre las muestras recibidas en el Hospital Universitario Joan XXIII, cuya determinación es la sífilis en el año 2013.

Para el diagnóstico de la enfermedad en el laboratorio, se realiza una serología de anticuerpos Ig G, Ig M anti-*T.pallidum*, si estos son reactivos, se procede a confirmar mediante la técnica de inmuno blot los anticuerpos Ig G de la muestra contra anticuerpos inmovilizados en un soporte sólido.

Para la serología se requiere un mínimo de 100  $\mu$  de suero, técnica de Inmunoensayo diagnóstico in vitro, ADVIA Centaur® Ready Pack® para Syphilis (SPYH) Kit. Valor índice de rango de ensayo (0,1-45,0 RLU)

Para el confirmatorio se requiere un mínimo de 10  $\mu$  de suero, técnica de Inmuno blot, INNO-LIA™ Syphilis Score. Innogenetics®, Auto-lipa (SIEMENS)

## RESULTADOS:

El número de pacientes en el estudio es de 7663.

El sistema presenta los resultados de sífilis como no reactivo, dudoso o reactivo, de acuerdo con los valores índice establecidos con los calibradores:

- Las muestras con un valor índice  $< 0,90$  se consideran no reactivas para anticuerpos frente al *T. pallidum* de la sífilis. Se han obtenido 7.409, un 96,69%.
- Las muestras con un valor índice  $\geq 0,90$  y  $< 1,10$  se consideran dudosas. Se han obtenido 4, un 0,05%.
- Las muestras con un valor índice  $\geq 1,10$  se consideran reactivas para anticuerpos frente al *T. pallidum* de la sífilis. Se han obtenido 250 muestras, un 3,26%.

De las 250 muestras consideradas reactivas, un total de 143, lo que supone el 57,20%, han dado un confirmatorio positivo, mientras que 107, el 42,80%, han dado un confirmatorio negativo. De los datos obtenidos observamos que las muestras con resultado dudoso todas fueron negativas en el confirmatorio de sífilis.

Las 143 muestras que han dado positivo en el confirmatorio, el valor mínimo serología para éstas es de 1,5. Así, podríamos establecer el valor índice en 1,5 para considerar como reactivas las muestras para anticuerpos frente al *T. pallidum* de la sífilis en lugar del 1,1 actual. Y el valor índice  $\geq 0,90$  y  $< 1,50$  para los casos dudosos.

## CONCLUSIÓN:

Con los resultados obtenidos podemos deducir que a partir de un valor de 1.5, obviamos el confirmatorio como positivo, menos en las muestras de pacientes con una posible sífilis congénita ya que el confirmatorio no detecta los anticuerpos Ig M.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 246**

### DIARREA ASOCIADA A CLOSTRIDIUM DIFFICILE: VALORACION DE TRES TÉCNICAS DIAGNOSTICAS MICROBIOLÓGICAS

*Autor/a/s: González-Carracedo Begoña, Pérez-García María Dolores, López-Fontecha María Dolores, Davila-Lemos Ana Belen, Marrodan-Ciordia Teresa, Fernández-Natal Isabel*

*Centro de trabajo: Complejo Asistencial Universitario de Leon-SACYL*

*Localidad: LEON*

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

## INTRODUCCIÓN:

El diagnóstico de diarrea asociada a *Clostridium difficile* (DACD) está basado en datos epidemiológicos, clínicos (generalmente diarrea y dolor abdominal) y ha-

Ilazgos microbiológicos. Como prueba diagnóstica inicial rápida se dispone de la detección mediante enzimoimmunoensayo (EIA) de glutamatodeshidrogenasa (GDH) y toxinas A/B, y como pruebas confirmatorias de la detección molecular de toxinas (PCR) y/o cultivo toxigénico (CT), método de referencia.

#### OBJETIVOS:

Valorar la detección molecular de toxinas mediante GenomERA CDX™ C. difficile (ABACUS Diagnostica (Alere Healthcare S.L.U.) como método de confirmación para el diagnóstico de la DACD.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se estudiaron 687 muestras de heces recibidas desde el 1 enero al 31 octubre de 2013 (10 meses) recibidas en el Servicio de Microbiología Clínica de un hospital de tercer nivel

Prueba rápida inicial: A todas las heces diarreicas o no formes (680) se les realizó una técnica rápida de EIA que detecta simultáneamente GDH de C. difficile y toxinas A/B (C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE, TECHLAB®, Alere- Healthcare, S.L.U.).

Pruebas de confirmación: A las muestras con resultado discordante "GDH Positivo/Tox Negativa" se les hizo PCR y CT como método de referencia. El CT se realizó en agar Schaedler y agar Clostridium difficile (bioMérieux, S.A.) en anaerobiosis/37°C/48-72 h. Además, a las colonias de C. difficile identificadas por su morfología típica y el característico "olor a establo", se les realizó EIA para detección de GDH y toxinas.

La prueba molecular GenomERA CDX™ C. difficile detecta una secuencia del gen tcdB responsable de la codificación de la toxina B de C. difficile.

#### RESULTADOS:

La prueba inicial rápida (EIA) fue negativa en 609 muestras (89,5%) y positivo en 37 (5,4%). En 34 muestras (5%) el resultado fue discordante (GDH Pos/Tox Neg) y fueron re-evaluadas mediante CT y PCR resultando 24 de ellas positivas: 19 por ambas técnicas y 5 por una de ellas (Tabla 1).

Tabla 1. Resultados de PCR vs CT en 34 muestras con resultados discordantes (GDH Positivo/Tox Negativa) en la prueba rápida inicial por EIA

	n= 34	CT Positivo	CT Negativo
PCR	Positiva	19	3
	Negativa	2	10

La sensibilidad de la PCR fue del 90% y la especificidad del 77%

#### CONCLUSIONES:

1. En nuestro medio y en el periodo de estudio, la prueba inicial rápida por EIA para diagnóstico de DACD a partir de 687 muestras fue positiva el 5,4%. Sin embargo, en otro 5% (n=34) los resultados fueron discordantes (GDH Positivo/Tox Negativa) requiriendo pruebas de confirmación: PCR y cultivo toxigénico. De este modo se logró incrementar el diagnóstico de esta entidad infecciosa hasta el 7,4%.
2. La técnica molecular GenomERA CDX™ C. difficile (ABACUS Diagnostica) es una técnica rápida (50 min) y sensible, lo que la hace más útil para la confirmación de C. difficile toxigénico. El CT tiene una alta sensibilidad y especificidad, pero el tiempo de respuesta puede ser de 48-72 horas
4. Para aumentar el rendimiento diagnóstico de la DACD, es recomendable realizar ambas pruebas confirmatorias ante la posibilidad de fallar una de ellas (no viabilidad en cultivo o inhibición de PCR).

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 251**

#### INVESTIGACIÓN DE BACTERIAS RESISTENTES A LOS DESINFECTANTES

*Autor/a/s: Alexandra Rosa, Fernando Mendes, Ana Valado, Armando Caseiro, António Gabriel, Nádía Osório*

*Centro de trabajo: Instituto Politécnico de Coimbra, ESTeSC, DACSP, Coimbra, Portugal*

*Localidad: Coimbra*

*Correo electrónico del primer firmante: fjmendes@estescoimbra.pt*

#### RESUMEN:

Introducción: Se han realizado diversos estudios sobre la resistencia a los antibióticos. Sin embargo, los temas sobre la resistencia a los desinfectantes fueron durante mucho tiempo olvidados por la comunidad científica. Después de los primeros informes sobre las especies más resistentes a los desinfectantes, la comunidad científica se volvió y comenzó a trabajar más en esta área. Actualmente se describen varias especies con esa capacidad (L. monocytogenes, S. aureus, E. faecalis, P. aeruginosa, entre otros), sin embargo, no hay certeza de cuáles son los mecanismos de resistencia involucrados. Se cree que adquieren resistencia a través de bombas de eflujo, cambios de membrana, genes de resistencia en plásmidos, entre otros procesos.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

La población de estudio consistió en 12 muestras de diferentes superficies, en la que nos fuimos en busca de bacterias que sobrevivieron con un mínimo de 300mg/ml de cloruro de benzalconio (BC). Se obtuvieron 12 cepas resistentes, que posteriormente fueron identificadas por métodos semiautomáticos (galerías de principios activos) y caracterizadas de acuerdo a su sensibilidad a los antibióticos por el método de difusión en disco y determinación de la concentración inhibitoria mínima de BC por el método de microdilución.

Resultados: De las 12 cepas aisladas resistentes a BC, hubo la presencia de 2 clones diferentes a través de la tipificación molecular, cada clon correspondiente a una especie diferente. Se identificó un Pseudomonas aeruginosa y un Enterobacter gergoviae. El perfil de resistencia de Pseudomonas era a la ampicilina y cefoxitina, Enterobacter presentó fenotipo intermedio sólo para ceftazidima. Las dos especies mostraron una CIM para BC de 5mg/mL.

#### DISCUSIÓN/CONCLUSIÓN:

Las cepas encontradas en este estudio demostraron ser altamente resistentes a BC, con concentraciones nunca antes descritas en la literatura. La cepa de E. gergoviae no está documentada en Portugal asociada con la resistencia a desinfectantes. En este sentido, es importante estudiar los posibles mecanismos involucrados en este tipo de resistencia.

#### PALABRAS CLAVE:

Desinfectantes, cloruro de benzalconio, bacterias

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 260**

#### ESTUDIO DE LA TINCION DE GRAM COMO METODO DIAGNOSTICO DE VAGINOSIS Y VAGINITIS BACTERIANA

*Autor/a/s: Purificación Cámara Medina, Francisca López Cobos, Santiago Pérez Parra, María Angeles Espigares Gallardo, José Liebana Ureña*

*Centro de trabajo: Hospital Universitario San Cecilio*

*Localidad: Granada*

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

#### INTRODUCCIÓN:

La vaginosis bacteriana es un síndrome común en mujeres de edad fértil, caracterizada por una disminución de la producción de peróxido de hidrógeno de microorganismos típicos residentes como microbiota vaginal, principalmente Lactobacillus spp. El cambio en el pH vaginal, causa una disbiosis característica, en la que aumenta el crecimiento de bacilos cortos anaerobios Gram variables, principalmente Gardnerella vaginalis. La presencia en la tinción de Gram de células descamativas del epitelio vaginal, con abundante presencia de bacilos cortos anaerobios Gram variables se denomina células Clue y son características en la vaginosis bacteriana. En cambio la presencia de leucocitos es típica de vaginitis bacteriana.

#### OBJETIVOS:

Conocer la utilidad de la tinción de Gram a partir de exudado vaginal, como herramienta predictora tanto de vaginosis bacteriana como de vaginitis, contrastada a su vez, con el cultivo del exudado vaginal realizado en la rutina.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realizó un estudio prospectivo durante los meses de octubre de 2012 a febrero de 2013 en los que fueron recogidas un total de 931 muestras de exudado vaginal. A todas ellas se les realizó una tinción de Gram y un cultivo en Agar Sangre, Mac-

conkey y Agar Cromogénico para Cándida en aerobiosis a 37°C y Agar Gardnerella en atmósfera de CO<sub>2</sub> a 37°C durante 24 horas. Además las tinciones en las que se observó presencia de células clue fueron inoculadas en galerías para detección de Mycoplasma hominis y Ureaplasma urealyticum.

### RESULTADOS:

Los resultados obtenidos de la tinción de Gram: microbiota (abundantes bacilos Gram positivos tipo Lactobacillus spp.), presencia de células clue, leucocitos y levaduras fueron registrados al igual que los datos de crecimiento de la siembra para contrastar la coincidencia de ambos.

TINCIÓN DE GRAM	CULTIVO POSITIVO	CULTIVO NEGATIVO
Células clue	176	60
No células clue	81	614
Leucocitos	11	38
No leucocitos	85	797

Los resultados observados muestran un mayor valor predictivo positivo para la vaginosis bacteriana a través de la presencia de células clue (75%) en la tinción de Gram. La predicción de vaginitis bacteriana mediante la presencia de leucocitos en la tinción de Gram, resulta ser menor (22%), teniendo una gran especificidad (95%).

### CONCLUSIONES:

La tinción de Gram sería una herramienta para el cribado de muestras negativas, tanto de vaginitis como de vaginosis bacteriana, teniendo unos valores predictivos negativos cercanos al 90%.

El diagnóstico de vaginosis o vaginitis, mediante la presencia en la tinción de Gram de células clue o de leucocitos, tendría que ser confirmada en el laboratorio de rutina mediante cultivo.

# MISCELÁNEA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 014

## UTILIDAD DE LA DETERMINACION AUTOMATIZADA DE LOS INMUNOSUPRESORES EN PACIENTES TRASPLANTADOS.

Autor/a/s: López Vidal, Antonia María; Martínez Prieto, Victoria; López Montero, Estibaliz.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO REINA SOFIA

Localidad: CORDOBA

Correo electrónico del primer firmante: amlopezvidal@gmail.com

### INTRODUCCIÓN:

Los trasplantes de órganos requieren la utilización de fármacos inmunosupresores capaces de controlar la respuesta inmunitaria desencadenada por la presencia de antígenos ajenos al propio organismo para evitar el rechazo del órgano trasplantado.

En función de su mecanismo de acción, los medicamentos inmunosupresores pueden dividirse en los siguientes grupos:

– Fármacos que interfieren la transmisión del estímulo al núcleo celular.

a) Corticoides.

b) Fármacos que se fijan a las inmunofilinas: inhibidores de la calcineurina (ciclosporina, tacrolimus) o de la mTOR (sirolimus, everolimus).

– Fármacos que interfieren la división celular: Azatioprina, ácido micofenólico.

– Fármacos que interfieren la acción del antígeno en el receptor del linfocito T.

a) Acción sobre moléculas situadas en la membrana celular: anticuerpos.

### OBJETIVOS:

Resaltar la importancia del tacrolimus como inmunosupresor por excelencia. Explicar porque es preciso monitorizar las concentraciones de dichos fármacos en sangre, a determinadas horas, para ajustar la posología del día siguiente.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

El mejor parámetro para monitorizar estos fármacos se realiza por inmunoensayo quimioluminiscente de micropartículas homogéneas (Architech™). El índice de cambio de la absorbancia se mide mediante espectrofotometría a 700 nm. Cuando se añade una muestra que contiene el inmunosupresor, se inhibe parcialmente la reacción de aglutinación, ralentizando así la tasa de cambio de la absorbancia. Se puede obtener una curva clásica de inhibición de la aglutinación dependiente de la concentración. La determinación debe ser realizada en sangre total anticoagulada con EDTA, previamente tratada con un reactivo específico para cada inmunosupresor.

### RESULTADOS:

En el Hospital Reina Sofía se realizaron 328 trasplantes en 2013, de los cuales 54 corresponden a trasplantes renales, 54 hepáticos y cardíacos 12. El 97% de nuestras muestras son pacientes trasplantados, el 2-3 % corresponden a enfermedades autoinmunes. El 65-70% utilizan como tratamiento el tacrolimus, el 30% lo engloban el resto de inmunosupresores.

La inducción, el tratamiento oral y la adherencia al tratamiento han de ser de estricto cumplimiento protocolario para optimizar el rango terapéutico de cada fármaco que dependerá del tiempo transcurrido y del tratamiento inmunosupresor concomitante.

### CONCLUSIONES:

Debido a la gran variabilidad interindividual de la farmacocinética de los inmunosupresores y a su estrecho margen terapéutico, es precisa la monitorización para ajustar la dosis.

Es fundamental en la fase preanalítica, seguir los protocolos, para minimizar tanto la estancia hospitalaria como el rechazo del trasplante y la toxicidad.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 016

## MEDIDAS DE CALIDAD MEDIANTE CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LAS CABINAS DE LABORATORIO DE FARMACIA DEL HOSPITAL VALL D'HEBRON DURANTE EL AÑO 2013

Autor/a/s: Hernández Santos Lorena; Coronado Alcántara Sheila; Macías Munuera Susana, Martínez Martínez Paula

Centro de trabajo: HOSPITAL VALL D'HEBRON

Localidad: BARCELONA

Correo electrónico del primer firmante: lhernandez001@gmail.com

### INTRODUCCIÓN:

En el área de mezclas 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 F y G. También disponemos, en un área contigua, de una cabina de flujo laminar vertical que denominaremos K.
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 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

b. 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 del año 2013 son los siguientes:

(ADJUNTAREMOS TABLA CON LOS DATOS OBTENIDOS DURANTE EL AÑO 2013)

Supone un total de 1082 cultivos de agar-sangre realizados de los cuales 40 presentaron un crecimiento bacteriano de UFC. Representan el 3,70% del total. En el 96,30% restante los controles fueron negativos.

1.2 Muestras terapéuticas de producto finalizado en adultos (mezclas de nutrición parenteral)

ADJUNTAREMOS TABLA CON LOS DATOS OBTENIDOS DURANTE EL AÑO 2013)

Supone un total de 96 muestras terapéuticas de mezclas de nutrición parental que dieron totalmente negativas en crecimiento bacteriano. Se obtiene un resultado negativo del 100%.

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 del año 2013 son los siguientes:

ADJUNTAREMOS TABLA CON LOS DATOS OBTENIDOS DURANTE EL AÑO 2013)

Supone un total de 524 cultivos de agar-sangre realizados de los cuales 22 presentaron un crecimiento bacteriano de UFC. Representan el 4,20% del total. En el 95,80% restante los resultados fueron negativos.

### 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 95-96% dentro de margen aceptado de esterilidad del entorno de nuestras cabinas.

*Resumen Comunicación Científica - ORAL*

**Número: 027**

### BIOMARCADORES DIAGNÓSTICOS EN PACIENTES CON SÍNDROME DE OJO SECO (SOS) ASOCIADO A ENFERMEDAD INJERTO CONTRA HUÉSPED (EICH).

*Autor/a/s: CARMEN GARCÍA-VÁZQUEZ, LIDIA COCHO, VERÓNICA MARTÍNEZ-TOTTIL, 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 síndrome de ojo seco (SOS) asociado a enfermedad injerto contra huésped (EICH).

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se estudiaron 10 pacientes con EICH y 10 sujetos sanos (controlados en edad y género), 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 (CERLab, Visión I+D, Valladolid) Se obtuvo 1µl de lágrima de un solo ojo de cada individuo y se realizó una citología de impresión conjuntival (CIC) en la conjuntiva superior bulbar del mismo ojo para la obtención de células epiteliales conjuntivales. Las muestras recogidas se mantuvieron a -80°C hasta su análisis. Se analizó en las muestras de lágrima la concentración de 15 citoquinas/quimioquinas (EGF, Interleuquina(IL)-1RA, IL-1β, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-17A, IP-10/CXCL10, eotaxina-1/CCL11, IFN-γ, VEGF, TNF-α y RANTES/CCL5) mediante tecnología X-MAP, con un ensayo multianálisis comercial (HCYTO-60K, 15plex-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. La medida de expresión génica de marcadores inflamatorios en las células epiteliales conjuntivales se estudió mediante RT-PCR cuantitativa en tiempo real. Primeramente se extrajo el ARN de las células recolectadas mediante CIC y se cuantificó mediante espectrofotometría. Posteriormente se realizó la transcripción reversa de ARN a ADNc de dicho material. Finalmente, se analizó la expresión génica de 84 genes relacionados con inflamación mediante un RT<sup>2</sup> Profiler PCR a la carta (SABiosciences, Qiagen, EEUU), en un termociclador 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:

En lágrima, los niveles de la expresión de EGF, IL-2 y IP-10/CXCL10 se encontraron significativamente disminuidos en los pacientes con EICH en comparación con los controles (p=0,0009, p=0,028 y p=0,0002, respectivamente); mientras, los niveles de IFN-γ e IL-12p70 se encontraron significativamente incrementados en los pacientes de EICH (p=0,013 y p=0,014 respectivamente). Treinta y tres de los 84 genes analizados en las células epiteliales de la conjuntiva tenían cambios estadísticamente significativos en su expresión: 4 de ellos (IFN-γ, CCL18, IL-9, y CCL2) estaban aumentados más de 15 veces en los pacientes de EICH y 28 de los genes tenían su expresión moderadamente aumentada (2-15 veces) en los pacientes; mientras, la expresión de EGFR estaba significativamente disminuida casi 4 veces en los pacientes con EICH comparado con los controles sanos.

### CONCLUSIONES:

La expresión de diversas moléculas en lágrima y en epitelio conjuntival se encontró alterada en los pacientes de EICH. El uso de técnicas de análisis en muestras de lágrima y en epitelio conjuntival nos proporciona nuevas herramientas para el establecimiento de potenciales biomarcadores diagnósticos para esta patología.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 030**

### ESTUDIO DE LA FÓRMULA LEUCOCITARIA EN LA INFECCIÓN POR VIRUS H1N1

*Autor/a/s: Crespo Veintimilla, María Luisa; Hidalgo Sanchís, Amparo; Talavera Fraile, Aurora Pedro Gómez, Gloria*

*Centro de trabajo: Hospital Arnau Vilanova*

*Localidad: Valencia*

*Correo electrónico del primer firmante: gloriapedro2@hotmail.com*

### INTRODUCCIÓN:

El agente productor de la enfermedad conocida como Gripe A, es un virus de familia Orthomyxoviridae, genoma segmentado de ARN monocatenario y hay tres tipos (A, B y C). El virus de la influenza experimenta cambios frecuentes en sus antígenos de superficie. Los subtipos de virus A se distinguen por las diferentes clase de proteínas H (Hemaglutinina) y N (Neuraminidasa). La infección en el hombre se debe a los subtipos que combinan las proteínas antigénicas H1, H3 y N1 ó N2. Siendo un tipo A (H1N1) el que desde el 2009 protagoniza una variante de gripe especialmente virulenta. Los virus entran por la faringe en el aire contaminado con gotitas de secreción nasal o traqueo-bronquial, a la traquea bronquios y bronquiolos donde empieza a multiplicarse.

La defensa primaria del organismo frente a una infección son los Leucocitos, hay de 5.000 -10.000 por milímetro cúbico, y comprenden tres tipos: 1 Granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) que pueden fagocitar bacterias; 2 Monocitos, que fagocitan restos celulares y 3 Linfocitos que participan en la inmunidad humoral y celular. De los varios tipos de leucocitos, los Neutrófilos representan el 40-70% del N° total de los leucocitos, los Linfocitos representan el 20-40% y los Monocitos el 2-8%. La modificación del porcentaje de leucocitos puede orientar en el diagnóstico de enfermedades infecciosas, inflamatorias y otros procesos.

## OBJETIVO:

Nuestro objetivo es comparar los cambios que observan en la serie blanca del hemograma, en los pacientes diagnosticados del virus H1N1 versus grupo control. En un grupo de población de ambos sexos y de edades comprendidas entre los 16 y 85 años, con el virus H1N1 positivo, se estudia comparativamente con un patrón estándar, el comportamiento de la fórmula leucocitaria.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se estudia 51 pacientes que entraron por el Servicio de Urgencias en el H. Arnau de Vilanova, de los cuales son 28 hombres y 23 mujeres (total 51 muestras), con edades comprendidas entre 16-85 años a los cuales se le realiza las siguientes determinaciones:

Hemograma en COULTER LH de BECKMAN (tubo con EDTA.K3); bioquímica básica en vitros 3600 (Química seca) de Ortho Clinical Diagnostic (tubo de heparina de litio); Coagulación convencional en ACL TOP.300 de IZASA (tubo con citrato sódico), y Anormales y sedimento por Aution Max de Menarini. Además se le realizó un frotis faríngeo para la confirmación de virus H1N1 por Reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR).

Se realizan dos determinaciones simultáneas:

1. Hematimetría, en tubo con EDTA 4 ml de sangre total. En analizador COULTER LH-710.
2. Determinación de la presencia de virus H1N1 en exudados faríngeos: recogido en fómite con medio de transporte para virus de Vircell y Biomedics. Se extraen 500 µL de muestra y se realizan las técnicas RT-PCR (cualitativa). Se determina el RNA viral de Influenza H1N1. Con kit de ArtusH1N1 en analizador Lightcycler 2.0 –LC, los positivos para gripe A se procesan con el kit CDC Center Disease Control Europeo

## CONCLUSIÓN:

Observamos que la cifra de leucocitos está dentro de los valores normales (5000-10000/mm<sup>3</sup>) en 28 muestras (56%), hay leucopenia en 13 muestras (25%) y leucocitosis en 10 de los casos (19%). En cuanto a la distribución de los porcentajes de la fórmula el 94% son valores normales, y solo en 3 casos (6%) tenemos fórmula invertida, con mononucleares aumentados a costa de la disminución de los polinucleares. En 3 pacientes hay monocitosis (>10%). Queremos destacar 2 casos extremos: uno de leucopenia y otro de leucocitosis. Con ello, reafirmamos el conocimiento general de la insensibilidad del estudio leucocitario ante las infecciones víricas, incluyendo la ocasionada por genotipos virulentos de la Influenza A. Siendo, los hallazgos patológicos, producto de las respuestas individuo-específicas, que podrían relacionarse con la evolución del proceso infeccioso. Esta relación deberá abordarse a través del seguimiento clínico de los enfermos en estudio ulterior.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 033**

### ESTUDIO DEL METABOLISMO OSEO Y LA DENSITOMETRIA OSEA EN PACIENTES CON TRASTORNOS ALIMENTARIOS

*Autor/a/s: INGELMO VEROZ MARIA JOSE, DE CABO MORALES MARIA JOSEFA, CONCEJO IZQUIERDO XIOMARA MARIA, CUADRADO BENITO MARIA TERESA, BLAZQUEZ MATEOS MARIA ISABEL*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA*

*Localidad: SALAMANCA*

*Dirección del primer firmante: Pza. Conde de Barcelona, 2, 1º B.*

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

## INTRODUCCIÓN:

El hueso es un tejido vivo y dinámico que necesita un equilibrio entre la formación y la resorción. Cuando este equilibrio se rompe por una alimentación inadecuada, puede dar lugar a osteopenia, osteoporosis y alteración hormonal.

## OBJETIVOS:

el objetivo es comprobar si las hormonas del metabolismo óseo en pacientes con trastornos alimentarios se alteran, o no, así como sus densitometrías óseas.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

El estudio se ha realizado con 144 muestras recibidas en el Servicio de Medicina Nuclear del Hospital Universitario de Salamanca de pacientes femeninas com-

prendidas entre los 13 y los 49 años con este tipo de patologías. El método utilizado para el estudio hormonal es el radioinmunoensayo, y para la densitometría ósea, el densitómetro.

## RESULTADOS:

PTHI	Anorexia	Bulimia	OTA
Normal	138 (95.8%)	126 (87.5%)	132 (91.6%)
Baja	0	0	0
Alta	6 (4.1%)	18 (12.5%)	12 (8.3%)
VIT D	Anorexia	Bulimia	OTA
Normal	78 (54.1%)	85 (59%)	103 (71.5%)
Baja	3 (2.08%)	14 (9.7%)	10 (6.9%)
Alta	63 (43.7%)	45 (31.2%)	31 (21.5%)
OSTEOCALCINA	Anorexia	Bulimia	OTA
Normal	86 (59.7%)	76 (52.7%)	114 (79.1%)
Baja	21 (14.5%)	14 (9.7%)	18 (12.5%)
Alta	37 (25.6%)	54 (37.5%)	11 (7.6%)
CADERA	Anorexia	Bulimia	OTA
Normal	84 (58.3%)	126 (87.5%)	123 (85.4%)
Osteopenia	54 (37.5%)	18 (12.5%)	16 (11.1%)
Osteoporosis	6 (4.1%)	0	5 (3.4%)
COLUMNA	Anorexia	Bulimia	OTA
Normal	60 (41.6%)	113 (92.3%)	98 (68%)
Osteopenia	53 (36.8%)	11 (7.6%)	38 (26.3%)
Osteoporosis	31 (21.5%)	0	8 (5.5%)

## CONCLUSIÓN:

De las tres hormonas estudiadas, las que más se alteran son la vitamina D y la osteocalcina. En cuanto a las densitometrías óseas, se observa que en los casos de anorexia, los valores para la osteopenia y la osteoporosis se elevan, tanto en cadera como en columna.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 042**

### EVALUACIÓN DE LA SEGURIDAD Y LA EFICACIA PRELIMINAR DEL TRASPLANTE DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES DE TEJIDO ADIPOSEO HUMANO PARA REGENERAR LA SUPERFICIE OCULAR DAÑADA DE UN MODELO DE SÍNDROME DE INSUFICIENCIA LÍMBICA DESARROLLADO EN CONEJO.

*Autor/a/s: Esther Rey, Sara Galindo, José M. Herreras, María Plata-Cordero, Ana de la Mata, Marina López-Paniagua, Margarita Calonge, Teresa Nieto-Miguel.*

*Centro de trabajo: CIBER-BBN. IOBA (Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada).*

*Localidad: Valladolid*

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

## INTRODUCCIÓN:

Las células madre responsables de la regeneración del epitelio corneal se localizan en el denominado "limbo esclero-corneal", la zona de transición entre la córnea (zona transparente) y la esclera-conjuntiva (zona blanca y opaca). Contar con una población de células madre de limbo sana es esencial para mantener la córnea transparente e íntegra. La falta de estas células madre produce opacidad corneal, ulceración y vascularización. Este cuadro clínico se conoce como Síndrome de Insuficiencia Límica (SIL) cuyas principales secuelas son ceguera corneal, dolor crónico y disminución de la calidad de vida.

El trasplante de células madre de limbo cultivadas es el tratamiento más eficaz para los pacientes con SIL. Sin embargo, la mayoría posee los dos ojos enfermos, por lo que es indispensable disponer de tejidos oculares sanos procedentes de donantes. Esto supone un factor limitante, razón por la que actualmente existe un

enorme interés en averiguar si el trasplante de células madre no oculares podría ser igualmente eficaz.

#### **OBJETIVOS:**

Evaluar la seguridad y la eficacia preliminar del trasplante de células madre mesenquimales de tejido adiposo humano (hAT-MS) para regenerar la superficie ocular dañada de un modelo de SIL parcial desarrollado en conejos.

#### **MATERIAL Y MÉTODOS:**

Se realizó un estudio en 12 conejos, a los que se les practicó una lesión de 180° en el limbo y una desepitelización completa de la córnea con n-heptanol. Después de 3 semanas, a seis conejos se les trasplantó hAT-MS marcadas con bromodesoxiuridina (BrdU) sembradas sobre membrana amniótica. Durante las 8 semanas siguientes, se les evaluó el estado de la superficie ocular: el grado de vascularización, de opacidad corneal y de defecto epitelial mediante la aplicación de fluoresceína sódica. Estos signos clínicos fueron valorados de 0 a 4, siendo 0 la ausencia de daño y 4 los daños más severos. Al final del período de seguimiento, se extrajeron los botones córneo-limbo-esclerales tanto de los conejos experimentales como de los controles, y se fijaron en paraformaldehído al 4%.

A continuación, se tallaron las muestras de tal forma que obtuviésemos la zona central del botón córneo-limbo-escleral comprendiendo limbo superior, córnea central y limbo inferior. Una vez procesadas, se incluyeron en parafina y se realizaron cortes de 4 µm al microtomo. Utilizamos la tinción de PAS para observar la morfología tisular y analizar la presencia de células inflamatorias y de células calciformes (específicas de la conjuntiva). Además, se realizaron estudios de inmunofluorescencia utilizando varios anticuerpos para identificar diferentes marcadores: BrdU se utilizó para localizar a las hAT-MS marcadas; citoqueratina 3 (CK3) y E-cadherina se utilizaron como marcadores específicos de células epiteliales de la córnea; y citoqueratina 15 (CK15) y p63 como marcadores específicos de células madre de limbo.

#### **RESULTADOS:**

Ninguno de los signos clínicos empeoraron después del trasplante de membrana amniótica con hAT-MS. No se encontraron diferencias histológicas en los ojos trasplantados en comparación con los ojos control (en ambos casos había presencia de células inflamatorias y algunas células calciformes en el limbo). Los defectos epiteliales disminuyeron significativamente 3 semanas después del trasplante. En las zonas inflamadas del estroma limbar se encontraron hAT-MS marcadas con BrdU, y los fenotipos epiteliales de la córnea y del limbo (expresión del CK3 y E-cadherina en la córnea, CK15 y p63 en el limbo) fueron parcialmente restaurados.

#### **CONCLUSIONES:**

Nuestros resultados demuestran que las hAT-MS son seguras, migran a las áreas inflamadas de la superficie ocular y restauran parcialmente el fenotipo epitelial corneal de un modelo de SIL parcial desarrollado en conejo.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 048**

### **CONTROL DE CALIDAD EN LA PREPARACIÓN DE COLIRIO DE CEFTAZIDIMA DE 50 MG/ML**

*Autor/a/s: MARIA CARMEN QUESADA ALMARCHA, NURIA BORREGO VINUESA, ELISA MARIA RODRIGUEZ CAMACHO, YOLANDA ALACIO PALOMO*

*Centro de trabajo: HOSPITAL VALL D'HEBRON*

*Localidad: BARCELONA*

*Correo electrónico del primer firmante: m.c.quesada@hotmail.com*

#### **INTRODUCCIÓN:**

En el Laboratorio del Servicio de Farmacia del Hospital Universitari de la Vall d'Hebron se realiza la preparación de colirios de Cefazidima de 50 mg/ml, cefalosporina de tercera generación con acción bactericida, utilizado para el tratamiento de oftalmítis bacteriana y queratitis, tanto en pacientes hospitalizados como en pacientes ambulatorios.

#### **OBJETIVOS:**

Asegurar la correcta manipulación a la hora de procesar la preparación.

Garantizar que los controles microbiológicos sean correctos.

Comprobar que los controles analíticos de la mezcla final están dentro de la normalidad.

#### **MATERIAL Y MÉTODOS:**

Cabina de Flujo Laminar Horizontal (CFLH), Tears Humectante de 15 ml, Cefazidima 1g, Agua estéril y apirógena.

1 jeringa correctamente identificada, con 1ml aproximadamente, del colirio realizado para enviar al Servicio de Microbiología.

1 jeringa correctamente identificada, con 2ml aproximadamente, del colirio realizado para enviar al Laboratorio de Bioquímica.

#### **RESULTADOS:**

En el período comprendido entre enero y diciembre de 2013 se ha trabajado correctamente, obteniendo los siguientes **RESULTADOS:**

Los resultados del control microbiológico han sido negativos.

Los controles cualitativos de Ph y Osmolaridad han estado dentro de los intervalos de normalidad: ph entre 6,27 – 6,76 y osmolaridad entre 324 – 387 mosm/l.

#### **CONCLUSIONES:**

Se consigue proporcionar un producto estéril, estable y efectivo que cubre necesidades terapéuticas necesarias que no están cubiertas con los productos comerciales de las empresas farmacéuticas.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 051**

### **ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LAS NUTRICIONES PARENTERALES PEDIÁTRICAS**

*Autor/a/s: YOLANDA ALACIO PALOMO, MARIA CARMEN QUESADA ALMARCHA, NURIA BORREGO VINUESA, ELISA MARIA RODRIGUEZ CAMACHO.*

*Centro de trabajo: Hospital Universitari Vall d'Hebron*

*Localidad: Barcelona*

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

#### **INTRODUCCIÓN:**

Las bolsas de nutrición parenteral (NP) pautadas para pacientes pediátricos, se elaboran por el personal/profesional técnico a partir de múltiples componentes, todos ellos estériles, utilizando para la adición de todos ellos y el llenado final de la bolsa la bomba ExactaMix 2400 (BAXA) ubicada en una cabina de flujo de aire laminar horizontal (ISO5).

En el servicio de farmacia de el Hospital Universitario Vall d'Hebron, para minimizar los riesgos de contaminación microbiana y de partículas, las cabinas de flujo laminar se hayan ubicadas en un área limpia de aire controlado denominada misterium.

#### **OBJETIVO:**

Garantizar la correcta manipulación del producto a la hora de procesarlo.

Asegurar que los resultados microbiológicos sean negativos.

Comprobar que las condiciones del lugar de trabajo sean correctas.

#### **MATERIAL Y MÉTODOS:**

Cabina de flujo laminar horizontal (CFLH).

Bomba ExactaMix 2400 (BAXA).

Bolsa de nutrición parenteral con muestra representativa del producto final.

Frasco de vacío de 100mL.

Semanalmente se realizan dos controles microbiológicos para determinar la ausencia de crecimiento microbiológico en las nutriciones parenterales elaboradas por el técnico de laboratorio.

La muestra se recoge, al final de la elaboración de todas las nutriciones parenterales solicitadas, siguiendo el mismo procedimiento que con las anteriores bolsas. Se conecta la bolsa, que se desea lleva a analizar a microbiología y se procede a su llenado con el resto de componentes individuales que han quedado sobrantes de las preparaciones anteriores. Finalizada la bolsa, se recoge una alícuota de

la misma de 50 ml, en un frasco de vacío, que se almacena en farmacia para un posible control posterior mientras que la bolsa de nutrición se envía al servicio de microbiología para su comprobación debidamente etiquetada y sellada.

Los resultados microbiológicos que se obtengan quedan registrados.

En este caso se han recogido datos del periodo comprendido entre los meses de Enero-Diciembre del 2013.

#### RESULTADOS:

Se han elaborado 6000 preparaciones anuales y se han realizado 100 controles en el año 2013 de los cuales los 100 se obtienen con crecimiento microbiológico cero.

#### CONCLUSIONES:

Se obtienen los resultados de ausencia de contaminación en las nutriciones parenterales de pediatría.

Aseguramos la buena praxis y la esterilidad.

Al paciente le llega un producto final estable y estéril.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 075**

### CONTROL DE CALIDAD EN LA INYECCION DE LA INTRAOCULAR DE CEFUROXIMA.

*Autor/a/s: MARIA CARMEN QUESADA ALMARCHA, NURIA BORREGO VINUESA, ELISA MARIA RODRIGUEZ CAMACHO, YOLANDA ALACIO PALOMO*

*Centro de trabajo: HOSPITAL VALL D'HEBRON*

*Localidad: BARCELONA*

*Correo electrónico del primer firmante: m.c.quesada@hotmail.com*

#### INTRODUCCIÓN:

En el servicio de farmacia del Hospital Universitari Vall d'Hebron se realizan inyecciones intraoculares de antibiótico de cefuroxima a partir del vial inyectable, indicadas para el tratamiento profiláctico de las endoftalmitis bacterianas postquirúrgicas.

Las preparaciones intraoculares deben ser estériles y apirógenas, y tener unos valores de pH y osmolaridad lo más similares posible a los valores fisiológicos (pH de 7,4 y osmolaridad de 280 mOsm/l). Para garantizar la esterilidad se trabaja en una zona de aire controlado (cabina de flujo laminar horizontal) y se parte de productos estériles.

Estas inyecciones se someten a un control de calidad que consta de un análisis bioquímico y otro microbiológico.

#### OBJETIVOS:

Evaluar la idoneidad del proceso de preparación de las jeringas en función de los resultados de pH, osmolaridad y controles microbiológicos obtenidos durante un año.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Recopilación de los resultados bioquímicos y microbiológicos obtenidos de enero a diciembre de 2013, de 21 muestras de cefuroxima intraocular.

Los resultados se consultan en una base de datos donde se registran según fecha de llegada.

#### RESULTADOS:

- La media obtenida de los resultados de pH es de 7,13 y la osmolaridad de 304 mOsm/l.

- Crecimiento de microorganismos en las muestras cultivadas, todos negativos.

#### CONCLUSIONES:

Las preparaciones de inyecciones intraoculares de cefuroxima realizadas en nuestro servicio de farmacia muestran unos resultados de pH y osmolaridad que se aproximan a los fisiológicos, y unos valores negativos de microbiología.

Según estos resultados podemos concluir que el método de preparación es adecuado para obtener una preparación estéril y lista para su administración.

*Resumen Comunicación Científica - PANEL*

**Número: 108**

### LA AUTOMATICACION EN LA FASE PREANALITICA.

*Autor/a/s: López Vidal, Antonia María; Titos Aguilera, Jose; López Montero, Estibaliz.*

*Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO REINA SOFIA*

*Localidad: CORDOBA*

*Dirección del primer firmante:*

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

#### INTRODUCCIÓN:

Es primordial dar a conocer las principales características de un trabajo que está muy mecanizado.

Conseguimos que el laboratorio aumente:

1-La Calidad

2-La Rapidez de respuesta

Los errores pre-analíticos son en gran parte responsables del retraso en el informe de resultados:

#### OBJETIVOS:

Disminuir porcentaje de errores pre-analíticos y el tiempo de respuesta del laboratorio.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Programa del Médico: Diraya (Centro de Salud), OpenLab (Hospital)

Escáner de peticiones

Automatizador mutAG HCTS2000: Lector láser de códigos de barras para la clasificación y distribución de las muestras a las distintas secciones del laboratorio. También separa el tubo erróneo o mal identificado.

#### RESULTADOS:

Los errores pre-analíticos más comunes son:

Falta de datos demográficos.

· Falta de número de historia del paciente.

· Falta código médico.

· Mal etiquetado de petición y muestras.

· Todo conlleva a una pérdida de tiempo incalculable intentando subsanar estos errores

Rellenar correctamente la petición no es un tiempo perdido, agiliza el trabajo del laboratorio. Hay que:

• Despegar la etiqueta mal pegada, rota o arrugada.

• Buscar etiqueta que esté en condiciones (si es que nos la han mandado con la petición).

• Proceder a etiquetar correctamente para poder procesar dicha muestra o en último extremo identificar a mano.

La eliminación de errores garantiza resultados más fiables por lo que se optimiza en ahorro, calidad y tiempo.

#### CONCLUSIONES:

La clasificación de las muestras de forma automatizada supone una mejora en el tiempo de respuesta, una optimización de recursos y subsanar la mayoría de los errores de la fase pre-analítica.

La perfección no existe pero si todos los profesionales de la sanidad ponemos un poco más, aun, de nuestra parte, dedicando un momento a repasar antes y después de la extracción, la petición y las muestras que se envían al laboratorio. Con esta sencilla costumbre de repaso de nuestro trabajo, podemos reducir e incluso eliminar un tanto por ciento muy elevado de los errores pre-analíticos que se producen en su llegada al laboratorio. Lo que ayudaría a mejorar la asistencia al paciente aunque tengamos una evidente falta de medios materiales y humanos en la sanidad pública ajena a la voluntad del personal sanitario.

**INTERPRETACIÓN CLÍNICA DE LOS SEMINOGRAMAS REALIZADOS EN EL ÁREA SANITARIA NORESTE DE GRANADA DURANTE 2010.**

Autor/a/s: Roldán Peñuela, María Jesús; Moreno Robles, Almudena; Miranda Roldán, Esther; Esteban Suárez, Eduardo.

Centro de trabajo: Hospital General de Baza.

Localidad: BAZA (GRANADA).

Correo electrónico del primer firmante: marian.roldan@hotmail.com

**INTRODUCCIÓN:**

El espermatozoide es una suspensión viscosa de espermatozoides en un líquido protector y nutritivo (plasma seminal) procedente de las secreciones de diversas glándulas anejas al aparato reproductor masculino. El estudio del espermatozoide es la prueba más importante para evaluar la infertilidad de origen masculino, así como para evaluar y diagnosticar diversas patologías del aparato reproductor. Según las recomendaciones publicadas por la O.M.S. en 1999, se observan en primer lugar los caracteres físicos del líquido (pH, volumen, aspecto, viscosidad y tiempo de licuefacción), que informa sobre la "calidad" de las secreciones glandulares, y un posterior estudio microscópico, que evalúa las características de los espermatozoides a través de cuatro parámetros: vitalidad, motilidad, concentración y morfología. Nuestro objetivo es conocer y clasificar las principales anomalías que presentan los seminogramas recogidos en nuestra Zona Sanitaria durante un año.

**MATERIAL Y MÉTODOS:**

En la U. G. C. De Laboratorio del Hospital General de Baza se han procesado un total de 172 seminogramas durante el año 2010 procedentes de las Consultas Externas de Urología y Ginecología-Esterilidad. Las muestras se obtuvieron por masturbación tras una abstinencia sexual de 3-5 días, y todos se entregaron tibios en un plazo inferior a 45 minutos. El procesamiento se realiza según las recomendaciones de la O.M.S. (1). El análisis macroscópico requiere sólo material convencional de laboratorio. El microscópico se ejecuta con microscopio de contraste de fase "Olympus", líquido de Weigman (diluyente a base de formol en medio alcalino) y cámara de Neubauer para la concentración, Panóptico (morfología) y eosina Y (vitalidad). El análisis estadístico de los resultados se realiza mediante su inclusión en una base de datos de "Microsoft Access", clasificación en grupos fijando puntos de corte, y posterior procesamiento en Hoja de Cálculo de "Microsoft Excel".

**RESULTADOS:**

Se muestran expresados en porcentajes en la siguiente tabla:

Astenoneozoospermia	6,25
Astenoospermia	16,66
Necroospermia	1,04
Normoospermia	36,45
Oligoastenoospermia	13,54
Oligoastenoospermia	12,5
Oligoospermia	13,54

**CONCLUSIONES:**

La astenoospermia (movilidad espermática igual o inferior a 50%) es la alteración más frecuente de nuestro medio.

Son frecuentes las alteraciones combinadas de concentración, vitalidad y motilidad.

Son infrecuentes la necroospermia (vitalidad espermática inferior al 50%) y la oligoospermia (concentración espermática inferior a 20 millones/ml.) aisladas.

La normoospermia no es muy frecuente por motivos que serán tema de posteriores estudios, sospechándose problemas de contaminación.

**BIBLIOGRAFÍA:**

"Laboratory Manual of the O.M.S. for the examination of the Human Semen and your interaction between the Semen and the Cervical Snot". Ed. Pan-American, 2002.

**¿DEBEMOS TENER EN CUENTA CUALQUIER TAMAÑO FOLICULAR PARA LA POSTERIOR PREPARACIÓN DE PLACAS DE CULTIVO?**

Autor/a/s: Cernuda Hernández, David; Cruz Palomino, María; Testillano González, María; Rodríguez Fernández, Adela; Bronet Campos, Fernando.

Centro de trabajo: IVI Madrid

Localidad: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: david.cernuda@ivi.es

**INTRODUCCIÓN:**

El tamaño folicular y las concentraciones séricas de estradiol se usan normalmente como indicadores de la maduración ovocitaria durante un ciclo de estimulación controlada. Normalmente, los criterios para inducir la ovulación incluyen la presencia de folículos dominantes de 16-18 mm, y se ha descrito que ovocitos procedentes de folículos >12 mm tienen mayores tasas de fecundación y división (Ectors, 1997); además, también se ha establecido una correlación positiva entre el tamaño folicular y la presencia de ovocitos metafase II (Scott, 1989). En base a estos resultados, se ha propuesto la posibilidad de aspirar los folículos de menor tamaño, porque a pesar de tener menor potencial en cuanto a su capacidad para completar su maduración nuclear, cuentan con suficientes factores maternos como para completar con éxito la fecundación.

El trabajo diario de un técnico en el laboratorio de FIV en la preparación del set-up se basa fundamentalmente en la monitorización folicular previa realizada por el ginecólogo el día que programa la punción. Esta estimación previa aporta información necesaria al técnico en cuanto al número de placas que tiene que preparar en base a la cantidad de folículos totales o  $\geq 14$  mm determinados por el clínico. Sin embargo, en numerosas ocasiones, esta foliculometría no se corresponde ni con el número total de ovocitos aspirados ni con la proporción total de ovocitos maduros obtenidos, siendo este hecho el principal motivo por el que en numerosas ocasiones se deben preparar placas adicionales o bien deben desecharse, con los retrasos consiguientes en el procedimiento y una mala optimización de los recursos disponibles.

El objetivo de nuestro estudio es intentar determinar, de forma retrospectiva, si los ovocitos procedentes de folículos de menor tamaño tienen un potencial de viabilidad similar a los derivados de folículos de mayor tamaño, con el propósito de ajustar las estimaciones en la preparación de las correspondientes placas de cultivo.

**MATERIAL Y MÉTODOS:**

Estudio retrospectivo de 118 punciones realizadas durante el año 2013. Se incluyen pacientes sometidas a ciclo de reproducción asistida cuyos ovocitos serán fecundados mediante la técnica de microinyección y en cuya foliculometría previa se observa una diferencia de al menos 8 folículos entre los folículos totales y los de buen tamaño ( $\geq 14$ mm). Los hemos dividido en tres grupos según el tamaño folicular: Grupo 1 (folículos totales), grupo 2 (folículos >12mm) y grupo 3 (folículos  $\geq 14$ mm) para intentar estimar el tamaño folicular óptimo a tener en cuenta en el cálculo de placas de cultivo. El cálculo se realiza preparando una placa por cada 4 folículos y únicamente se usarán para aquellos ovocitos que tras la decumulación sean maduros y aptos para su fecundación, en nuestro caso un total de 1181 ovocitos MII. Se realiza una ANOVA para variables continuas y se fija la significación estadística en  $p < 0,05$ .

**RESULTADOS:**

Observamos diferencias significativas ( $p=0,044$ ) entre los tres grupos de estudios en función de si valoramos el número total de folículos obtenidos en el grupo 1 ( $n=2257$ ), en el cual desechamos un promedio de 2,30 placas por paciente al realizarse la aspiración y la decumulación de los ovocitos; por su parte en el grupo 2 con un total de 1535 folículos >12 mm, se desecharían un promedio de 0,76 placas por paciente; y por último, en el grupo 3 donde contabilizamos 1080 folículos  $\geq 14$ mm, necesitaríamos preparar 0,22 placas por paciente para cubrir nuestras necesidades.

**CONCLUSIONES:**

El cálculo de placas en la preparación del set-up diario, debe de establecerse según los folículos mayores de 12 mm ya que si lo hacemos en función del número total de folículos, el gasto de material es muy elevado y si lo calculamos contando únicamente los folículos  $\geq 14$  mm faltarían placas de cultivo, con los consecuentes retrasos y problemas de organización que eso supondría.

**CARACTERIZACIÓN DE CÉLULAS MADRE MESENCQUIMALES PORCINAS DE LÍQUIDO SINOVIAL**

*Autor/a/s: Álvarez Pérez Verónica, Usón Gracia Alejandra, Blázquez Durán Rebeca, Sánchez Margallo Francisco Miguel, Tapia Araya Angelo, García Casado Javier.*

*Centro de trabajo: Centro de Cirugía de Mínima Invasión "Jesús Usón"*

*Correo electrónico del primer firmante: valvarez@ccmijesususon.com*

**INTRODUCCIÓN:**

Los estudios realizados en los últimos años han demostrado que las células madre mesenquimales tienen un elevado potencial terapéutico así como una gran capacidad de diferenciación a diferentes linajes. También se les ha atribuido otras propiedades como la estimulación de la angiogénesis y la supresión de la inflamación, por ello, estas células se han considerado como un tratamiento muy eficaz para el tratamiento de diferentes patologías.

En este estudio se han aislado y caracterizado células madre procedentes del líquido sinovial, de animales sanos para posteriormente usarlos en ensayos preclínicos. La metodología empleada en este trabajo demuestra que el protocolo de aislamiento y expansión celular utilizados, permiten la obtención de un abundante número de células en un corto periodo de tiempo. Además se demuestra que tras 3-4 pases en cultivo, la población celular presenta un alto grado de pureza.

**OBJETIVOS:**

El objetivo de este trabajo fue el aislamiento, diferenciación y caracterización de líneas de células madre mesenquimales procedente de líquido sinovial en modelo porcino.

**MATERIAL Y MÉTODOS:**

Después de obtener el líquido sinovial, se procedió al aislamiento de las células mediante la adhesión de estas al plástico. Las células adheridas se mantuvieron en cultivo hasta alcanzar un 80% de confluencia, estas células fueron tripsinizadas y expandidas para posteriores ensayos.

Los análisis inmunofenotípicos de las células se realizaron mediante citometría de flujo usando anticuerpos monoclonales conjugados con FITC. Los ensayos in vitro de multipotencialidad, se realizaron induciendo la diferenciación condrogénica, osteogénica y adipogénica, mediante medios de cultivo específicos para cada una de las diferenciaciones.

**RESULTADOS:**

Mediante el cultivo de las células obtenidas en 1 ml de líquido sinovial y su expansión se pudo obtener un número de células suficientes para ser empleadas en modelos animales preclínicos, el tiempo de duplicación de las células osciló entre 2,5 y 3 días, al ser cultivadas estas a una concentración de 5000 células/cm<sup>2</sup>.

El análisis inmunofenotípicos de los tres donantes demostró que estas líneas celulares expresan los marcadores de superficie característicos de células madre mesenquimales siendo positivas para CD105, CD44, CD29 y CD90 y negativas para los marcadores CD31 y CD45. En cuanto a la expresión de las moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad SLA-I y SLA-II, estas células muestran un perfil débilmente positivo para clase-I y negativo para clase-II.

En los ensayos de diferenciación se observó que las células consiguieron diferenciarse hacia los tres linajes celulares. En las células sometidas a diferenciación adipogénica se pudo observar la presencia de acúmulos lipídicos. En la diferenciación osteogénica se observaron acúmulos de matriz ósea desmineralizada. En la diferenciación condrogénica se observó la matriz cartilaginosa. Sin embargo, en las células control no se observaron cambios morfológicos.

**CONCLUSIONES:**

El protocolo de expansión in vitro utilizado posibilita la obtención de células multipotentes en un número elevado. Además, las células obtenidas muestran características muy similares a las descritas en humano, por lo que los resultados preclínicos obtenidos con estas células serían extrapolables para el desarrollo de nuevas estrategias en la aplicación de terapia celular en enfermedades osteoarticulares.

**INFLUENCIA DEL MEDIO DE CULTIVO EN UN LABORATORIO DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA**

*Autor/a/s: Testillano González María, Cernuda Hernández David, Rodríguez Fernández Adela, Martínez Fernández Ana, Alonso Lorite Jessica, de Lucas Aguado Irene, Becerra Fernández Diego, Agudo Garcillán David*

*Centro de trabajo: IVI Madrid*

*Localidad: Aravaca, Madrid*

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

**INTRODUCCIÓN:**

En los casos de pacientes que se someten a ciclos de reproducción asistida con donación de ovocitos tras tratamientos con ovocitos propios sin éxito, nos planteamos realizar la transferencia de los embriones cuando éstos se encuentran en el estadio de blastocisto y así conseguir identificar el 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.

En los controles de calidad de nuestro laboratorio de reproducción asistida antes de incorporar al uso rutinario un medio de cultivo, es imprescindible compararlo con otro de resultados conocidos.

El objetivo de este estudio es comparar los resultados obtenidos con un medio desconocido frente a dos medios ya implantados en nuestro laboratorio.

**MATERIAL Y MÉTODOS:**

Estudio prospectivo en el que se incluyen 125 pacientes sometidas a ciclos de donación de ovocitos en IVI Madrid entre Febrero de 2013 y Febrero de 2014. Se obtuvieron un total de 1064 embriones sometidos a cultivo secuencial, es decir, transferencia en día 5 y de un único embrión. Los incubadores empleados contienen sistema trigas con aportación de CO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub> adecuada para el pH óptimo de los medios de cultivo (7,2-7,4).

El cultivo de los embriones fue dividido en dos grupos, "grupo 1" en el que 552 embriones se desarrollaron en medios de cultivo testados en nuestro laboratorio: Global Total ("GT") junto al medio de la casa comercial COOK (Cleavage y Blastocyst) y "grupo 2" en el que 512 embriones se desarrollaron en medio IRVINE (Continuous Single Culture Complete with gentamicin).

**RESULTADOS:**

Se obtuvo una Tasa de Fecundación (TF) de 82,88% y de 79,50% en el grupo 1 y 2 respectivamente, p-valor<0,05. La Tasa de Blastocisto Total (TBT) fue de 69,20% en el grupo 1 y de 60,54% en el grupo 2, p-valor=0,0031. La Tasa de Blastocisto de Buena Calidad (TBBC) de 59,42% en el grupo 1 y en el grupo 2 de 49,41% p-valor=0,0011.

Respecto a la Tasa de Implantación (TI) se obtuvo 60,31% para el grupo 1 y 54,90% para el grupo 2, p-valor<0,05. Se observan diferencias significativas al comparar grupo 1 y 2 en la TBT y TBBC, p-valor<0,05.

**CONCLUSIONES:**

Se observan mayores tasas de blastocisto total (TBT) y de blastocisto de buena calidad (TBBC) en los casos en los que los embriones se desarrollaron en medios de cultivo testados en nuestro laboratorio, que utilizamos de manera rutinaria, GLOBAL y COOK.

**COCULTIVO VS CULTIVO SECUENCIAL EN PACIENTES DE EDAD MATERNA AVANZADA**

*Autor/a/s: Rodríguez Fernández Adela, Cernuda Hernández David, Testillano González María, Becerra Fernández Diego, Nogales Barrios M<sup>a</sup> del Carmen, Agudo Garcillán David, Bronet Campos Fernando*

*Centro de trabajo: IVI Madrid*

### **INTRODUCCIÓN:**

Como indican muchas publicaciones la técnica de cocultivo puede ser una opción para mejorar las tasas de blastocisto gracias a la secreción de factores embriotróficos y la acción detoxificante que las células del endometrio ejercen sobre el embrión.

El objetivo de este estudio es comparar los resultados obtenidos con la técnica del cocultivo frente al cultivo secuencial, en pacientes de edad materna avanzada (EMA) incluidos en el programa de Diagnóstico Preimplantacional (DPI)

### **MATERIALES Y MÉTODOS:**

En este estudio se han incluido 334 pacientes con indicación de EMA durante el año 2012. De los cuales a 189 se les ha cultivado con células endometriales (cocultivo) y a 145 cultivo secuencial (CS).

Todos los ovocitos han sido fecundados mediante microinyección intracitoplasmática (ICSI) 3-4 horas después de la punción. Los medios de cultivo utilizados son de la serie VITROLIFE®. Los embriones fueron biopsiados en día tres de desarrollo y se cultivaron en medio CCM (CS) o con células endometriales más medio de cultivo CCM (cocultivo) hasta la transferencia en día cinco.

Para formar la monocapa sobre la que se desarrollan los embriones se utilizan las células del epitelio endometrial humano. Éstas se obtienen a partir de una biopsia de endometrio, en fase media secretora, por considerar que la monocapa endometrial proporciona el ambiente más fisiológico para el desarrollo embrionario.

### **RESULTADOS:**

En la tasa de Implantación obtenemos una diferencia significativa entre los dos grupos (con CC 44,7%, con CS 22,0%)  $p=0.0002$ . Asimismo la tasa de blastocisto es mayor con la técnica del cocultivo: 60,0% Vs 54,3% en CS  $p=0.2996$

### **CONCLUSIONES:**

El método del cocultivo tiene un efecto positivo en el desarrollo embrionario, mejorando las tasas de implantación en pacientes de Edad Materna Avanzada

# ÍNDICE DE AUTORES

<b>Autor_Primerero</b>	<b>n.º página</b>	<b>Autor_Primerero</b>	<b>n.º página</b>
AGUDO MORENO, ANA	80	DE CASTRO PUENTE, MIRIAM	14
ALACIO PALOMO, YOLANDA;	125	DEL DEDO TORRE, M <sup>a</sup> ANGELES;	30
ALONSO DIEZ, JOSE ANTONIO	60	DEL RIO GARRIDO, ANA;	54
ALONSO MORRONDO, ELENA JULIA;	5	DELGADO VEGA, AZUCENA;	61
ALVAREZ GONZALEZ, M <sup>a</sup> BEGOÑA;	11	DIAZ GONZALEZ, MARIA DEL CARMEN;	19
ALVAREZ PEREZ, VERONICA;	128	DIAZ VALDEZ, MARIA JOSE;	58
ARAS IBARZABAL, MONIKA;	66	DIAZ ZAYAS, MARIA DOLORES;	90
ARES VIDAL, OLGA;	22	DIEGO VALVERDE, CRISTINA	84
BARBA MIRAMONTES, MARIA JOSE.	92, 93	DOBARAN INSAUSTI, GERAXANE	48
BARBANCHO MARTIN, ALEJANDRO;	90	DOMINGUEZ ALONSO, LAURA;	41
BARRANCO HERRERA, AURORA;	13	DOMINGUEZ LOPEZ, MARIA TERESA;	91
BECERRA FERNANDEZ, DIEGO;	41	DOMINGUEZ RUBIO, ALBINA;	44
BERGAZ LOPEZ, MARIA TERESA;	53	EL-ABED LUQUE, FATIMA	12
BORONAL BELTRAN, JOSEFA	35	ESTEBANEZ GALLO, ANGEL	83
BORONAT LLORET, FRANCISCA;	25, 76	FAFIAN ARES, MARIA LUISA;	93
BOSCH GARROS, CONCEPCION;	20	FERNANDEZ ANEIROS, JAVIER;	69
CABALLERO MOYANO, FRANCISCO JAVIER	107,108	FERNANDEZ BAJO, M <sup>a</sup> TERESA;	30
CABEZA BARRIOS, BERNARDO;	68	FERNANDEZ CAMPOMANES, M <sup>a</sup> ROSARIO	32
CABEZAS FERNANDEZ, SANDRA	49	FERNANDEZ CHAMORRO, ALICIA	81
CALVENTE PEREZ, ANA;	34	FERNANDEZ CUESTA, MANUEL	101,109
CAMARA MEDINA, PURIFICACION;	120	FERNANDEZ GARCIA, EVA MARIA;	67
CAMPO CHAOS, IRENE;	109	FERNANDEZ GESTOSO, ROSA M <sup>a</sup>	62
CARRASCO ZAFRA, MONICA;	21	FERNANDEZ HEVIA, BARBARA;	5
CARRERO BAZ, PILAR	47	FERNANDEZ MARTINEZ, MERCEDES;	38
CERNUDA HERNANDEZ, DAVID	127	FERNANDEZ PALACIOS, M <sup>a</sup> BEGOÑA	116
COLLANTE SANCHEZ, SUSANA;	26, 43	FERNANDEZ RANCHAL, JOSE FELIX;	24
COLMENERO MARTOS, ANA MARIA	64	FIGUEROBA GARCIA, M <sup>a</sup> DEL ROSARIO;	72
COLOMO LOPEZ, ALMUDENA;	75,76	FOCHE ORDOÑEZ, ANA ISABEL;	10
CORONA JUAN, CRISTINA;	33	GALAN ARRIBAS, YOLANDA	59
CORZO LOPEZ, MARIA ANGELES;	45	GALLARDO GODOY, ANTONIA;	55,56
COUSELO NOYA, MARIA JESUS;	53	GALLARDO GODOY, ANTONIA;	56
CRESPO VEINTIMILLA, MARIA LUISA;	123	GANDIA GONZALEZ, M. ARANZAZU;	100
CRiado NAJAR, INMACULADA:	119	GARCIA GARCIA, MARIA JOSE;	57
DE CABO MORALES, M <sup>a</sup> JOSEFA;	96	GARCIA GUZMAN, FRANCISCA	63

<b>Autor_Primer</b>	<b>n.º página</b>	<b>Autor_Primer</b>	<b>n.º página</b>
GARCIA SANCHEZ, MARIA ISABEL;	21, 40	LOPEZ CASTRO, RODRIGO;	6
GARCIA TIRADOR, FRANCISCO	34	LOPEZ COBOS, FRANCISCA	104
GARCIA VAZQUEZ, CARMEN;	123	LOPEZ GUTIERREZ, MONTSERRAT;	91
GARCIA VELA, JOSE HERMINIO;	96,97,98	LOPEZ OVERA, SONIA;	5, 7
GARRANDES ASPRON, ROSA;	18	LOPEZ SANCHEZ, MANUEL	105
GEA LOPEZ, MARIA FERNANDA;	37	LOPEZ SANCHEZ, MARIA LUISA	106
GIL GALOCHINO, MARIA CARMEN	50	LOPEZ VIDAL, ANTONIA MARIA;	122,126
GILARRANZ AMADOR, YOLANDA	31	LOPEZ VILLANUEVA, MIRIAM;	95
GOMEZ PEINADO, MARISOL	28	LOPEZ-GARCIA, ANTONIO;	9
GONZALEZ GOMEZ, ELOISA;	112	LUCAS GOMEZ, MARGARITA	32
GONZALEZ LAGUNA, SORAYA;	61	LUCENÓ CASTILLA, YOLANDA;	45
GONZALEZ MARTINEZ, RAQUEL;	11	LUJAN GARCIA, MARIA ISABEL;	19
GONZALEZ ROSA, MANUEL	107	MALO NIEVEDES, VERONICA;	15
GONZALEZ-CARRACEDO, BEGOÑA;	119	MARCO CASTRO, ELENA	85
GRACIA MARTINEZ, ANA;	71	MARQUEZ GALAN, MILAGROS;	42
GUERRA MONTAÑO, AMPARO	77,116	MARQUEZ SALAZAR, RAFAEL	103
GUERRERO CRESPILO, ANGELA MARIA	102	MARTIN GARCIA, JULIA EDUVIGIS;	29
GUIILLEN ESTEBAN, PILAR;	39	MARTIN VEGA, JOSE VALERIO;	67
GUILLEN ESTEBAN, CARMEN	62	MARTINEZ BARRIOS, ESTEFANIA	46
GURREA VIDAL, NURIA;	12	MARTINEZ CAMEO, NIEVES FELISA;	96
GUTIERREZ ARIZA, MARINA CAMILA;	9	MARTINEZ LOPEZ, R.;	54
HERMOSIN GUARDADO, ENCARNACION	80	MARTINEZ MATIENZO, MARIA INMACULADA	48
HERNANDEZ DIAZ, GEORGINA;	111	MARTINEZ PALACIOS, SANDRA	50
HERNANDEZ SANTOS, LORENA;	122	MARTINO, MARIO;	
HERRERA RUBIO, GUADALUP'E;	39	MATILLA MATILLA, FELIX MIGUEL	14
HERRERO BERROCAL, MARIA;	42	MEDINA JIMENEZ, Mª JOSE;	16
HITA SANCHEZ, MARIA TRINIDAD;	22	MEJIAS GARCIA, Mª ROSARIO	63
IGLESIAS LEMA, MARIA TERESA	61	MERIDA DEL CAÑO, MARIA DOLORES;	99
INGELMO VEROZ, MARIA JOSE;	124	MERINO RIVILLA, P.;	86
ISNARD CARO, LEONARDO JESUS;	94	MIRANDA ROLDAN, ESTHER	31,59,80
JIMENEZ AVILA, ROSARIO;	115	MOLINA LUNA, ISABEL;	45
JIMENEZ MARTI, LAURA;	51	MONGE CAMACHO, MARIA DEL PATROCINIO;	27
JIMENEZ SUAREZ, EDELIA	113	MONS MANICH, ANNA	106
KONATEN JURADO, MARIA MARGARITA,	33	MONTE PUIG, MARIA ROSA;	109
LAMELA BERENGENO, MARIA ISABEL;	39,117	MONTERO RODRIGUEZ, LUIS ALBERTO	36
LAPUEBLA VIEL, CONSUELO;	57	MONTERO VELASCO, OLGA,	23
LINARES DICKLER, ISABEL;	78,79	MONZON MARTIN, SANTIAGO L.;	101

<b>Autor_Primer</b>	<b>n.º página</b>	<b>Autor_Primer</b>	<b>n.º página</b>
MORALES AGUILERA, MERCEDES;	40	RODRIGUEZ GARCIA, MINERVA DEL PINO	36
MORALES GALAN, PILAR;	98	RODRIGUEZ LOPEZ, MARIA DEL CARMEN	112
MORENO CASARES, ANTONIA MARIA;	72,73	RODRIGUEZ LOPEZ-MOSQUERA, CARLOS;	58
MORENO RENTERO, ISABEL;	111	RODRIGUEZ MURCIEGO, MANUELA;	18
MORENO SUAREZ, ELENA M <sup>a</sup> ;	16	RODRIGUEZ RODRIGUEZ, JULIA;	53
MOYA MORENO, MARIA TERESA;	103	RODRIGUEZ RODRIGUEZ, SUSANA	49
MUÑO ANDRADE, MARIA JOSE;	94	RODRIGUEZ VEIRA, CARMEN MARIA	84
MUÑOZ PAREJA, PILAR;	10	ROLDAN MORENO, JOCABED	49
MUÑOZ SANJUAN, MARIA ISABEL.	88	ROLDAN PEÑUELA, MARIA JESUS	77, 78,127
MUÑOZ SANJUAN, MARIA ISABEL.	88	ROMERO GARCIA, PAULA;	37
MUÑOZ SERRANO, MARIA JOSE;	7	ROMERO GONZALEZ, JOSE LUIS	81
NAVARRO MARTIN, ESTRELLA	114,115	ROSA, ALEXANDRA;	120
NAVARRO PLAZA, ANA FLOR;	68	ROYO GUALLAR, ROSARIO;	44
NAVARRO RUIZ, MARTA	118	RUIZ PEREDA, LUZ MARIA	117
NUÑEZ GARCIA, CARMEN;	29	RUIZ PEREZ, ANTONIA	118
OCAÑA UREÑA, C.;	86	RUIZ PEREZ, MARIA DEL MAR.	20
ORTEGA, OLGA	31	RUIZ PEREZ, MARIA JOSE;	98
OSBORNE MARQUEZ, PEDRO	35	SALVADOR LORENZO, MARIA JOSE	117
PADROS RIBAS, NURIA	64	SAMPEDRO DE LA TORRE, INMACULADA CONCEPCION;	102
PAGOLA DEL SANTO, MARIA JESUS;	74	SAN FRUTOS CIMAS, MARIA LUISA;	74
PASCUAL CAMPO, MARIA DEL CARMEN	83	SANCHEZ ALVAREZ, ANTONIO;	99
PELAEZ NORA, YOLANDA	46	SANCHEZ HERNANDEZ, FRANCISCO JAVIER	118
PEREZ PINAR, CARMEN;	99	SANCHEZ MATEOS, CARMEN BEATRIZ;	23
PIÑEIRO FREIRE, MARTA;	70	SANCHEZ SALAZAR, MARIA ISABEL;	87,88
PISO NEIRA, MAGALI	13	SANTANA GARCIA, MARTA MARIA;	110
POSADA POSADA, MIGUEL ANGEL;	12	SANTOS MARTIN, CRISTINA	81
PRIETO SAINZ, MARIA BELEN;	19	SANZ MAROTO, AROA;	89
PUERTAS RODRIGUEZ, ARACELI	103	SASTRE GARROTE; ANA MARIA;	28
QUESADA ALMARCHA, MARIA CARMEN;	125, 126	SEGURA PEREZ, ANA MARIA;	8
QUESADA GARCIA, MARIA JOSEFA;	55	SEIJAS SANTAMARIÑA, MARIA;	38
RAMOS GUTIERREZ, EPIFANIO;	75	SENAR PONTE, MERCEDES	65
REY, ESTHER;	124	SERRANO FERNANDEZ, MARIA INES	59
RIOS QUESADA, CATALINA;	24	SERRANO SOLIS, DOLORES;	26
RIOS RAMOS, MARIA JOSEFA	27	SIERRA ATIENZA, CELESTINA	116
RODRIGUEZ CALVIÑO, MARIA TERESA;	111	SILVA PEREIRA, CRISTINA;	52
RODRIGUEZ CASADO, LOURDES;	15	SUAREZ SANTANA, DOLORES;	101
RODRIGUEZ FERNANDEZ, ADELA	128	TESTILLANO GONZALEZ, MARIA	128

<b>Autor_Primer</b>	<b>n.º página</b>
TORRES CARRASCO, ELENA;	51
TORRES ULINES, SOLEDAD	34
TORRES, M. ANGELES	65
URCIA ROZAS, CARLOTA	104, 105
USON, ALEJANDRA;	6
VALDERRAMA MORAL, FRANCISCO ANTONIO	113,114
VAZQUEZ BARBA, ISABEL DOLORES;	100
VAZQUEZ CASTRO, MARCOS;	69
VAZQUEZ ONTIVEROS, ESPERANZA;	56
VEGA VARGAS, CONCEPCION:	86
VILLAR LOSADA, CASIMIRA;	71
VIRLAN-BOHORQUEZ, ROCIO;	82,87



**FUNDACIÓN - FRANCISCO**  
**SORIA MELGUIZO**