

TABLA 1. Comparación de valores de absorbancia entre los 156 sueros hemolizados y no hemolizados a los que se les realizó determinaciones serológicas por EIA

Test	Sueros positivos						Sueros negativos					
	n	Cut-off positivo	Rango de absorbancia		Δ Absorbancia ^d	p ^e	n	Cut-off negativo	Rango de absorbancia		Δ Absorbancia	P
			Hemolizados	No hemolizados					Hemolizados	No hemolizados		
AgHBs	8	0,080 ^a	0,097-3,506	0,087-3,392	0,016 $\pm$ 0,069	0,52	27	0,080 ^b	0,026-0,058	0,023-0,059	-0,0001 $\pm$ 0,05	0,87
Anti-HBs	10	0,133 ^a	0,292-4,000	0,348-3,905	-0,03 $\pm$ 0,089	0,33	19	0,133 ^b	0,036-0,127	0,045-0,101	0,055 $\pm$ 0,018	0,20
Anti-HBc	8	0,568 ^c	0,036-0,395	0,022-0,402	0,0135 $\pm$ 0,025	0,19	25	0,694 ^b	0,939-1,659	0,980-1,658	-0,004 $\pm$ 0,103	0,83
Anti-HCV	8	0,376 ^a	3,011-4,000	3,110-4,000	-0,014 $\pm$ 0,14	0,79	19	0,376 ^b	0,031-0,121	0,029-0,087	0,001 $\pm$ 0,008	0,75
Anti-HIV 1/2	8	0,484 ^a	2,514-3,729	2,812-3,677	-0,056 $\pm$ 0,17	0,36	24	0,436 ^b	0,043-0,135	0,042-0,091	-0,0185 $\pm$ 0,090	0,53

^aValor mínimo de absorbancia para considerar el resultado positivo.

^bValor máximo de absorbancia para considerar el resultado negativo.

^cValor máximo de absorbancia para considerar un resultado positivo.

^dMedia $\pm$ diferencias de absorbancia entre sueros hemolizados y no hemolizados.

^eTest de probabilidad pareado.

Interferencia de la hemólisis en las determinaciones serológicas

Sr. Editor: Actualmente se acepta que los sueros hemolizados o sueros lipémicos no son convenientes para realizar estudios serológicos¹. Sin embargo, existen guías de laboratorio e instrucciones de los propios fabricantes con información contradictoria sobre este tema: en una se advierte del uso de estos sueros y en otras se acepta. En este trabajo analizamos los resultados obtenidos con 156 sueros pertenecientes a reclusos del Centro Penitenciario de Granada recibidos en nuestro laboratorio para estudio serológico de hepatitis B (AgHBs, anti-HBs, anti-HBc), hepatitis C (anti-VHC) y de VIH (anti-VIH 1/2) ensayados en ausencia y presencia de hemólisis como detallamos seguidamente.

Se recogieron 5 ml de sangre en tubos con gel separador de polietileno tereftalato (Terumo, Venojet II, Terumo Europa, Leuven, Bélgica) y se centrifugaron a 1.500 g durante 15 min; 0,5 ml de estos sueros se alicotaron en tubos de polipropileno. Los tubos de polipropileno y los tubos con gel separador (con el suero restante y el gel con la capa de células rojas) se congelaron a -20 °C. Después de 18 h en el congelador, las muestras se descongelaron a temperatura ambiente y la barrera del gel separador se perforó con ayuda de una varilla de vidrio de 2 mm de diámetro para favorecer el paso de hemoglobina al suero. Agitamos vigorosamente y finalmente se volvió a centrifugar de nuevo el suero. El suero en los tubos con gel separador perforado después de este proceso mostraba un color rojo, que indicaba paso de hemoglobina. Las determinaciones AgHBs, anti-HBs, anti-HBc y anti-VIH se realizaron con los tests Enzygnost Dade-Behring (Marburg, Alemania), y para el caso de anti-VHC

se utilizó Elisa Test System Ortho HVC3.0 (Ortho Clinical Diagnostics Inc Raritan, Nueva Jersey).

Siguiendo las instrucciones de los fabricantes. Las muestras se dispensaron directamente utilizando un procesador de muestras Genesis Robot 150 (Tecan AG, Hombrechtikon, Suiza) y, posteriormente, la reacción inmunoenzimática y la lectura de absorbancia se realizó en un procesador de ELISA BEP III (Dade Behring).

La evaluación del efecto de la hemólisis en los tests serológicos realizados se hizo comparando los resultados cuantitativos (medidos en absorbancia) obtenidos para sueros hemolizados y sus correspondientes no hemolizados. Para evitar la variabilidad interensayo cada determinación de suero hemolizado y su pareja no hemolizado se ensayaron en la misma microplaca.

Encontramos una total concordancia en los resultados cualitativos de los 156 sueros hemolizados y no hemolizados. Tampoco encontramos diferencias significativas (test T pareado) en las medidas de absorbancia de los 156 sueros hemolizados y no hemolizados (tabla 1).

La hemólisis es un punto de interés en la química clínica, pues su presencia puede causar resultados engañosos y la sobreestimación de algunos analitos (p. ej., hidroxibutirato deshidrogenasa, aspartato transaminasa creatina, bicarbonato, potasio)²⁻⁴. La hemólisis también puede interferir en los ensayos nefelométricos de proteínas de suero⁵ y en los inmunoensayos de fluorescencia polarizada de gentamicina y vancomicina^{6,7}.

Los posibles mecanismos de interacción de la hemólisis en los ensayos inmunoanalíticos (EIA) pueden darse en la reacción antígeno-anticuerpo, en la reacción de detección o en la medida del color. Sin embargo, los ensayos de EIA heterogéneos, que incluyen un

paso de lavado, son probablemente menos propensos a mostrar interferencias con la hemólisis⁸.

No hemos encontrado ningún estudio sistemático que analice la posible influencia de la hemólisis en los ensayos serológicos. Los datos de este estudio muestran que la hemólisis no interfiere significativamente en los resultados de los EIA heterogéneos utilizados en este estudio. Sin embargo, al existir en la práctica clínica una enorme variedad de inmunoensayos y de sistemas de detección de reacción antígeno-anticuerpo⁹, no es posible generalizar estos hallazgos; así, cada técnica debería ser evaluada para comprobar que la hemólisis no interfiere en los resultados de los tests empleados.

Javier Rodríguez-Granger,

Enrique Camacho-Muñoz,

Antonio Sampedro

y Manuel Rosa-Fraile

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada. España.

Bibliografía

1. Carpenter AB. Enzyme-linked immunoassays. En: Rose NR, Conway de Macario E, Fahey JL, Folds JD, Lane HC, Nakamura RM, editors. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 5th ed. Washington: American Society for Microbiology; 1997. p. 20-9.
2. Boyanton BL Jr, Blick KE. Stability of twenty-four analytes in human plasma and serum. Clin Chem. 2002;48:2242-7.
3. Devgun MS. Delay in centrifugation and measurement of serum constituents in normal subjects. Clin Physiol Biochem. 1989;7:189-97.
4. O'Leary BJ. Interference due to haemolysis in routine photometric analysis- a survey. Ann Clin Biochem 1998;35:128-34.
5. Bossuyt X, Blanckaer NT. Evaluation of interferences in rate and fixed-time nephelometric

assays of specific serum proteins. Clin Chem. 1999;45:62-7.

6. Callas DD, Clark TL, Moreira PL, Lansden C, Gawryl MS, Kahn S, et al. In vitro effects of a novel hemoglobin-based oxygen carrier on routine chemistry, therapeutic drug, coagulation, haematology, and blood bank assays. Clin Chem. 1997;43:1744-8.
7. Ma Z, Monk TG, Goodnough LT, McClellan A, Gawry M, Clark T, et al. Effect of hemoglobin- and Perflubron-based oxygen carriers on common clinical laboratory tests. Clin Chem. 1997; 43:1732-7.
8. Baer DM. Hemolysis in serological specimens. Medical Laboratory Observer. March 2003. Disponible en: <http://www.mlo-online.com/>
9. Constantine NT, Lana DP. Immunoassays for the diagnosis of infectious diseases. En: Murray R, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, editors. Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. Washington: American Society for Microbiology; 2003. p. 218-33.

Bacteriemia por *Acinetobacter ursingii*

Sr. Editor: *Acinetobacter ursingii* es un bacilo gramnegativo no fermentador, que como otros miembros del género *Acinetobacter* son aerobios estrictos, inmóviles, catalasa y oxidasa negativos. Su nombre trata de homenajear al microbiólogo y taxonomista Jan Ursing y fue descrito en 1989¹.

Presentamos el caso de una mujer de 63 años. Con el diagnóstico de adenocarcinoma gástrico con afectación peritoneal inició quimioterapia el día 5 de junio de 2003 con epirrubicina, UFT y leucovorin. Preciso ingreso por toxicidad gastrointestinal de grado 3 (diarrea y dolor abdominal, y necesito tratamiento antibiótico, nutricional parenteral y filgrastim), por lo que se sustituyó UFT por mitomicina, con mejor tolerancia. Se procedió a la colocación de un reservorio subcutáneo para administración de tratamiento intravenoso (Port-a-Cath) en octubre de 2003. El 5 de septiembre de 2005 acudió por presentar en repetidas ocasiones, siempre en relación con manipulación con el Port-a-Cath, picos febriles de hasta 39 °C, cefalea bitemporal sin síntomas neurológicos asociados y una adenopatía supraclavicular izquierda. Se pidió tomografía computarizada (TC) cerebral, punción-aspiración con aguja fina (PAAF) del ganglio y hemocultivos. Inicia tratamiento antibiótico empírico con levofloxacin (500 mg/24 h), con desaparición de los síntomas tras completar tratamiento durante 15 días. En las pruebas radiológicas no hubo evidencia de recaída, y la PAAF también fue negativa para células tumorales. Posteriormente volvió a consultar por picos febriles en relación con la manipulación del Port-a-Cath, por lo que se decidió retirar dicho dispositivo, sin

TABLA 1. Pruebas bioquímicas para diferenciar especies de *Acinetobacter*

	<i>A. ursingii</i>	<i>A. schindleri</i>	<i>A. junii</i>	<i>A. johnsonii</i>	<i>A. lwoffii</i>
Crecimiento 41 °C en BHI	—	+	V	—	—
Crecimiento 37 °C en BHI	+	+	+	—	V
Utilización de:					
Glutarato	+	+	—	—	—
L-aspartato	+	—	—	V	—

+: positivo en 90 de cada 100 aislados; —: positivo en 0 de cada 100 aislados; V: positivo en 11 de cada 89 aislados¹.

enviar al laboratorio de microbiología nuevos hemocultivos ni la punta del catéter para ser cultivados. Con esta medida la sintomatología infecciosa se resolvió definitivamente.

Coincidiendo con los picos febriles iniciales se procedió a la extracción de sangre a través del Port-a-Cath, que fue inoculada en seis frascos de hemocultivos; tres aerobios y tres anaerobios (ESP® culture system II, Trek, Diagnostic systems, Inc). Dos de las botellas aerobias fueron positivas tras 14 h de incubación y se subcultivaron a su vez en agar sangre y agar chocolate a 37 °C con una atmósfera enriquecida en el 5% con CO₂. Tras 24 h de incubación se observaron colonias de 1 a 1,5 mm de diámetro, circulares, convexas, mucosas y ligeramente opacas con márgenes irregulares. En la tinción de Gram se observaban cocobacilos gramnegativos.

Para proceder a su identificación se utilizaron distintos sistemas; inicialmente se utilizó el sistema automático Vitek® 2 System (BioMérieux, España S.A.), el cual identificó dicho microorganismo como *Bordetella bronchiseptica* con un porcentaje de acierto del 95%. Sin embargo, el perfil bioquímico determinado por el sistema API 20 NE (BioMérieux, Marcy l'Etoile, Francia) identificaba el microorganismo como *Acinetobacter junii* (código n.º 0000071, con un porcentaje de identificación del 63,5% T = 0,71).

Debido a las discrepancias obtenidas y ante el bajo poder de discriminación de los sistemas comerciales empleados para la identificación de bacilos gramnegativos no fermentadores, procedimos a enviar la cepa para su identificación al Centro Nacional de Microbiología, donde se analizó la secuencia 16S rDNA². La identificación fue realizada comparando la secuencia obtenida en la base de datos GenBank usando el programa BLAST facilitado por The National Center for Biotechnology Information, tras lo cual se identificó al microorganismo como *Acinetobacter ursingii* (99% de similaridad para 1445 pb con las secuencias previamente descritas).

Para poder discriminar *A. ursingii* de otras especies del género *Acinetobacter* similares fenotípicamente, sin tener que recurrir a técnicas de biología molecular, hemos realizado las siguientes pruebas bioquímicas (tabla 1)¹.

La sensibilidad antibiótica del aislado se realizó utilizando el sistema automático Wider® System (Fco. Soria Melguizo, Madrid, España) y resultó sensible a imipenem, meropenem, gentamicina, tobramicina, amikacina, ciprofloxacino, cotrimoxazol y fosfomicina, mientras que resultó ser resistente a amoxicilina, amoxicilina/ácido clavulánico y nitrofurantoína.

La bacteriemia por *A. ursingii* es poco frecuente, únicamente hemos encontrado un caso publicado previamente³, en dicho caso el paciente presentaba un adenocarcinoma de pulmón, había recibido quimioterapia intravenosa a través de un catéter chamber y tratamiento con corticoides. El Laboratorio de Taxonomía del Instituto de Salud Carlos III ha identificado otras cuatro cepas de esta especie en los últimos 2 años que fueron aisladas de: sangre, herida, absceso periamigdalario y agua de tanque de destilador.

En este caso, la paciente era una enferma oncológica portadora de Port-a-Cath, por lo que suponemos que el origen de la infección se localizaba en la piel de la enferma, desde donde a través del catéter y debido a su inmunosupresión, se extendió al torrente sanguíneo. Aunque inicialmente tuvo una buena respuesta al tratamiento antibiótico, volvió a consultar por picos febriles en relación con la manipulación del Port-a-Cath, por lo que se decidió retirar dicho dispositivo. Con esta medida la sintomatología infecciosa se resolvió definitivamente.

Con este caso, tratamos de llamar la atención sobre el bajo poder de discriminación de los sistemas comerciales usualmente empleados en laboratorios de microbiología clínica para la identificación de bacilos gramnegativos no fermentadores y de la necesidad de realizar una correcta identificación de las distintas especies de *Acinetobacter*⁴ por razones epidemiológicas y terapéuticas. Este hecho se