



Revista del Laboratorio Clínico

www.elsevier.es/LabClin



COMUNICACIONES

V Congreso Nacional del Laboratorio Clínico

Málaga, 9-11 de noviembre de 2011

Autoinmunidad

0001. ESCLEROSIS SISTÉMICA: CLÍNICA Y LABORATORIO. A PROPÓSITO DE UN CASO

F. Moreno Obregón, C. Giadach Vargas, B. Aparicio Hernández, M.D. Sánchez González, J.A. Navajo Galindo y J. del Pino Montes

Hospital Clínico de Salamanca. España.

Introducción: La esclerosis generalizada es un trastorno multitiológico crónico de causa desconocida. Se caracteriza por engrosamiento de la piel y afección distintiva de múltiples órganos: pulmones, sistema gastrointestinal, corazón y riñones. Las primeras etapas de la enfermedad, que se acompañan de manifestaciones inflamatorias prominentes, van sucedidas de la aparición de alteraciones funcionales y estructurales difusas en múltiples lechos vasculares y disfunción gradual de órganos viscerales a consecuencia de la fibrosis.

Caso clínico: Mujer, 43 años, refiere episodios de inflamación y cambio de coloración en ambas manos en relación a situaciones de estrés o cambios de temperatura. Presentó un episodio de debilidad proximal en cinturas escapular y pelviana, ocasionándole limitación funcional. Refiere astenia marcada y dolor centrotorácico posprandial. Exploración física normal: tórax, abdomen, cardiovascular, extremidades inferiores, examen neurológico: normal (aunque fuerza en miembros inferiores: 4/5), y presentaba úlceras en "mordedura de rata" en pulpejos con coloración violácea en segundo dedo ambas manos. Se realizan exploraciones complementarias: hemograma, bioquímica, inmunológica, coagulación, serología, autoinmunidad: ANA - ENA: negativos. ANCAS: negativos. Anticuerpos anti-fosfolípidos (ac. anticardiolipina Ig G, ac. anticardiolipina Ig M, ac. anti-B2 glicoproteína Ig G y ac. anti-B2 glicoproteína Ig M): negativos, estudio de proteínas, estudio de orina, pruebas radiológicas, ECG, endoscopia digestiva, biopsia muscular, EMG, espirometría y pruebas de esfuerzo y capilaroscopia.

Diagnóstico diferencial de las miopatías

Inflamatorias	Dermatomiositis, polimiositis, miositis con cuerpos de inclusión, conectivopatías, vasculitis
Trastornos endocrinológicos y metabólicos	Hipo o hipertiroidismo, hiperfunción adrenocortical, diabetes mellitus con infarto muscular, hipopotasemia
Fármacos	Estatinas, zidovudina, alcohol, colchicina, corticoides, cocaína, heroína, penicilamina, ciclosporina, antimaláricos, tamoxifeno, diclofenaco
Infecciones	VIH, influenza, cosackie, adenovirus, virus hepatitis C, Epstein-Barr, toxoplasmosis, triquinosis
Enfermedades neuromusculares	Distrofias muscular, miastenia gravis, amiotrofia (esclerosis lateral amiotrófica, diabetes)
Miopatías metabólicas	Enfermedades por depósito de glucógeno, miopatías mitocondriales
Miscelánea	Inyecciones intramusculares, actividad física extenuante, polimialgia reumática, fibromialgia, sarcoidosis, miopatía del enfermo crítico, hipertermia, convulsiones prolongadas

Resultados: Se realizan anticuerpos, por inmunotransferencia, frente a los siguientes antígenos específicos de la esclerodermia por inmunotransferencia: ac anti-Scl70, ac. anti-CENP A, ac anti-CENP B, ac. anti-RP11 (RNAP-III), ac anti-RP155 (RNAP-III), ac. anti-fibrilarina, ac. anti-NOR 90, ac. anti-Th/To, ac. anti-Pm/Scl100, ac. anti-Pm/Scl75, ac. anti-Ku, ac. anti-Ro-52 y ac. anti-PDGFR. Se obtienen resultados positivos para RP11 (RNAP-III) Y RP155 (RNAP-III).

Conclusiones: Los ac. positivos justifican la clínica de la paciente. Están implicados hasta en un 20% de los casos de esclerosis sistémica difusa: edad de inicio tardío de la enfermedad (44 años), el 85% de los pacientes cursa con fenómeno de Raynaud, existe

una afectación cutánea y articular severa, presentan importantes contracturas articulares. Tienen una menor afectación visceral, un elevado riesgo de crisis renal y una menor gangrena digital, acroosteolisis y calcinosis. También se han visto implicados en patología pulmonar: Enfermedad pulmonar intersticial e hipertensión arterial pulmonar. Si existe anemia, la presencia de estos ac. implicarían un mayor riesgo para la ectasia vascular gástrica antral. Finalmente, destacar que los ANA se informaban como negativos porque el antígeno RP11 (RNAP-III) y el antígeno RP155 (RNAP-III) están ausentes en los tests de diagnósticos de rutina si el cribado se realiza por ELISA.

0002. INDICADORES DEL SEGUIMIENTO DEL PROTOCOLO DE PETICIÓN DE ANA EN EL LABORATORIO DE AUTOINMUNIDAD DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN MACARENA

S. Caparrós Cánovas, C. González Rodríguez, M.V. Perna Rodríguez, R. Mondéjar García y B. Fernández Pérez

Hospital Universitario Virgen de la Macarena. Sevilla. España.

Introducción: Las enfermedades autoinmunes son aquellas en las que nuestro sistema inmunológico funciona de un modo anormal reaccionando frente a algunas células de nuestro cuerpo como si fueran “enemigos”. Afectan al 3-5% de la población general, con una incidencia de 90 casos/100.000 personas/año. Estas se pueden clasificar en enfermedades autoinmunes sistémicas y específicas de órgano. Tanto las enfermedades autoinmunes sistémicas, como las específicas de órgano se asocian a la presencia de autoanticuerpos circulantes que unen proteínas propias. La detección de autoanticuerpos constituye, por tanto, una herramienta diagnóstica básica de las enfermedades autoinmunes. El grupo de trabajo de autoanticuerpos del Área Hospitalaria Virgen Macarena (AHVM) ha elaborado un protocolo de petición de anticuerpos antinucleares (ANAs), para ayudar al clínico al diagnóstico y a la vez evitar determinaciones que no proceden, con el gasto que ello conlleva. Si la petición viene de primaria se realiza ANA screening por ELISA, si este es negativo, no se hacen más determinaciones, y si es positivo, se realiza la inmunofluorescencia indirecta (IFI). Si la petición es de especializada se realiza ANA screening por ELISA e IFI. Si alguno de ellos es positivo, se hace la determinación de anti-dsDNA y ENA screening por ELISA. Por último, si el ENA screening es positivo, se determinan los ENAs específicos por ELISA (anti-Ro, anti-La, anti-Sm, anti-RNP, anti-Scl70 y anti-Jo1). El grupo consensua igualmente no solicitar ANA antes de un año de evolución del paciente una vez que se ha establecido el diagnóstico de la enfermedad.

Material y métodos: Se analiza el seguimiento del protocolo de ANAs en el laboratorio de autoinmunidad del HUVM en el año 2010, mediante la determinación de tres indicadores: número de peticiones total y por procedencia, tiempo transcurrido entre solicitudes y número de determinaciones realizadas fuera de protocolo. Se utiliza el sistema informático del laboratorio (Synergy, SIEMENS), para obtener los datos y el programa Microsoft Excel 2010 para el tratamiento de los datos.

Resultados: Nº total de solicitudes de ANAs en el año 2010 es de 11980. Nuestros mayores peticionarios son los servicios de Reumatología y Digestivo. Recibimos cerca de 2.000 peticiones de ANAs desde primaria; siendo muy pocas las que pasan a hacerse por IFI (25%). En el segundo indicador, vemos que en una muestra aleatoria de 100 solicitudes de ANA, el 65% son segundas peticiones de ANAs realizadas antes de 1 año, periodo recomendado para el seguimiento. Por último, comprobamos que solo un pequeño porcentaje de ENAs específicos (3-16%) se piden fuera del circuito del protocolo, y corresponden en su mayoría a seguimientos específicos llevados por Reumatología.

Conclusiones: El protocolo de ANAs está instaurado en el AHVM y el laboratorio recibe muy pocas solicitudes de ENAs específicos.

Se identifica como área de mejora la solicitud de ANA en el seguimiento de las enfermedades autoinmunes sistémicas; de forma que se eviten repeticiones inadecuadas en menos de 1 año.

0003. LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO CON AAF POSITIVOS EN EDAD PEDIÁTRICA

F. Moreno Obregón, M.L. Rivera Reigada, B. Aparicio Hernández, I. San Segundo Val, S. Gómez Castro, M. Muriel Ramos y J.A. Navajo Galindo

Complejo Hospitalario de Salamanca. España.

Introducción: El lupus eritematoso es una enfermedad autoinmunitaria en la que los órganos, tejidos y células se dañan por la adherencia de diversos autoanticuerpos y complejos inmunitarios. Entre un 10 y un 25% de todos los casos de L.E.S. se inician antes de los 16 años, con un pico entre los 10 y los 14 años. El inicio antes de los cinco años de edad es excepcional. Predomina en el sexo femenino a partir de los 5 años de edad, con una relación F/M de 4,2-18,5/1.

Caso clínico: Niña de 10 años que refiere dos meses antes del ingreso artralgias en hombros y rodillas sin signos inflamatorios y febrícula vespertina. Dos semanas después comienza con anorexia, astenia y lumbalgia. Se realiza analítica (aumento de VSG, transaminasas y leucopenia). Ante la sospecha de artritis reumatoide inicia tratamiento con AAS. Mejora los primeros cuatro días, tras los cuales comienza con fiebre elevada y vómitos. Antecedentes familiares: padre en seguimiento por proteinuria en Nefrología. Antecedentes personales: seguida en Endocrinología por pubertad precoz. Controlada desde hace dos años en consulta de Nefrología infantil por hematuria microscópica. Hace cuatro meses refiere un episodio de mano cianótica y dolorosa con el frío. Desde entonces señala lívido-reticularis en manos y dedos engrosados. Eritema malar y aftas bucales en los últimos tres días. Exploración física: BEG. Triste. Normocoloración de piel y mucosas. Chapetas malares. Exantema en alas de mariposa a nivel facial. Micropápulas palmares con descamación. Adenopatías subangulomandibulares bilaterales, en cadenas laterocervicales e inguinales. Telarquia y pubarquia grado III. Auscultación cardio-pulmonar: normal. Abdomen: normal. Exploración neurológica: normal. Cavidad orofaríngea: hipertrofia con enrojecimiento de mucosas gingival. Paladar ojival. Estudio oftalmológico: normal. Estudio cardiológico: ECG y Eco-Doppler: normal. Ecografía abdominal: hepatomegalia acentuada sin detectarse lesiones estructurales. Densitometría ósea: valores dentro de la normalidad. Exámenes complementarios: Hemograma: normal (VSG: elevada). Bioquímica: normal (excepto AST y ALT y LDH: elevados); PCR, factor reumatoideo y antiestreptolisinas: normal. Perfil lipídico: normocolesterolemia e hipertrigliceridemia. Orina: microhematuria. Proteinograma sérico: aumento de gamma-globulinas. Inmunoglobulinas: IgA: elevada, IgM e IgG: normal. Complemento C3: ligeramente descendido y C4: normal. Autoinmunidad: ANA: +. ANA titulación: 1/640. Patrón homogéneo. Ac. Anti-DNA IgG: > 400. ENA screening: negativo. ENA inmunotransferencia: positivo para ac. anti-dsDNA y ac. anti-nucleosomas. ac. frente a hepatopatía autoinmune y enfermedad celíaca: negativos. En revisiones posteriores comenzó a presentar Anticuerpos Antifosfolípidos (AAF) persistentemente elevados (Ac. anti-cardiolipina IgG, Ac. anti-cardiolipina IgM, Ac. anti-beta-2-glicoproteína IgG y Ac. anti-beta-2-glicoproteína IgM). Test de Coombs: positivo (Anti IgG +++). HLA-B27: negativo. HLA-DR4: positivo. El laboratorio de coagulación informa que el anticoagulante lúpico es positivo.

Conclusiones: El LES a pesar de ser una enfermedad grave y de la instauración precoz de tratamiento se necesita un adecuado control. Nuestra paciente aunque presenta títulos persistentemente elevados de AAF no ha desarrollado hasta la fecha ningún episodio trombótico ni embólico, aún así se está realizando profilaxis con Adiro 300. Las concentraciones de ac. anti-cardiolipina se rela-

cionan con la actividad de la enfermedad y títulos elevados se han asociado a afectación del SNC (no en nuestro caso).

0004. SÍNDROME OVERLAP ESCLEROSIS SISTÉMICA/ POLIMIOSITIS: A PROPÓSITO DE UN CASO

M. Martínez López, I. Romero García, I. Casanovas Moreno-Torres, R. Coscojuela Berga, M. López Melchor, J.V. García Lario y L. Jaimez Gámiz

Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada. España.

Introducción: Pacientes con patología asociada a tejido conectivo pueden presentar signos que corresponden a diversas enfermedades sin que se pueda definir una entidad concreta, conocidas como conectivopatías indiferenciadas, o pueden tener un patrón más definido asociado a la presencia de anti-RNP llamándose entonces enfermedad mixta del tejido conectivo (EMTC), que puede evolucionar y diferenciarse en otras enfermedades autoinmunes, principalmente lupus, esclerodermia o miositis. A la expresión de dos enfermedades definidas se le conoce como 'síndrome de superposición' siendo las asociaciones más frecuentes entre lupus, esclerosis, polimiositis y artritis. Presentamos el caso de una paciente a la que se diagnostica simultáneamente de esclerosis sistémica y polimiositis.

Material y métodos: Mujer de 60 años de edad con antecedentes familiares de cáncer de páncreas, sin hábitos tóxicos ni tratamiento habitual que es derivada a medicina interna para valoración por pérdida súbita de peso, presencia de ANA positivos y aumento de transaminasas. De su sintomatología destaca deterioro del estado general, artromialgias generalizadas, parestesias, raynaud de 2 años de evolución, sequedad ocular, nasal y bucal y sensación de pirois y reflujo gastroesofágico con disfagia a sólidos y a líquidos, no rash malar ni fotosensibilidad. En la exploración se observó afilamiento de comisura bucal, teleangiectasias en zona del escote, dedos fríos y afilados con piel difícil de pellizcar y limitación de movilidad de metacarpofalángicas. De las pruebas complementarias la espirometría evidenció un síndrome restrictivo ligero, la pH metría reflujo ácido patológico en supino y la RX de tórax discreta fibrosis en bases pulmonares. En las pruebas de laboratorio destaca bilirrubina total 1,59 mg/dL, GOT 80 U/L, GPT 48 U/L, CPK 1543 UI/L, LDH 516 UI/L y VSG 23. En el estudio de autoinmunidad AMA, SMA y LKM fueron negativos, descartando hepatopatía autoinmune, ANAs positivos, patrón moteado > 1/320 y screening de ENAS negativo, anti centrómero negativo, anti Scl-70 negativo, anti Pm/Scl negativo. El diagnóstico diferencial incluye enfermedades autoinmunes sistémicas como lupus y Sjögren que se descartaron al no cumplir los criterios requeridos. También se descartó enfermedad mixta de tejido conectivo (EMTC) al no presentar el criterio serológico anticuerpo anti RNP-U1. Se diagnosticó de esclerosis sistémica en su forma difusa por presentar criterio clínico mayor (engrosamiento, retracción e induración simétrica de piel de dedos, cara, cuello y abdomen) y criterios menores, aunque no presentó autoanticuerpos característicos de forma limitada (anticentrómero 40-80%) ni difusa (anti Scl-70 40%). Al presentar artromialgias generalizadas y LDH, CPK y GOT elevadas se realizó blot de polimiositis resultando positivo el autoanticuerpo anti-Ku. El anticuerpo presente en el 25% de síndromes de solapamiento polimiositis-esclerodermia, Pm/Scl, en este caso fue negativo. La paciente fue diagnosticada de síndrome overlap esclerosis sistémica difusa y polimiositis y se instauró tratamiento con nifedipino, un calcioantagonista, omeprazol y domperidona para molestias gastrointestinales.

Conclusiones: Las enfermedades autoinmunes (EAI) son un conjunto de afecciones clínicamente heterogéneo que requieren un abordaje diagnóstico y terapéutico multidisciplinario. El diagnóstico de laboratorio de las EAI es fundamental en estos cuadros clínicos. Es relativamente frecuente en estos enfermos el solapamiento (OVERLAP) entre EAI.

0005. ESTIMACIÓN DE LA PREVALENCIA DE LA DEFICIENCIA DE IGA EN LA POBLACIÓN GENERAL A TRAVÉS DE UN ESTUDIO POBLACIONAL DE NIVELES DE ANTICUERPOS ANTI-TRANSGLUTAMINASA IGA

I.M. Castro Vega, A. Serrano Garbalo, A.M. Fernández Ramos, B. Pérez Nevot, M. Mayor Reyes, M. Cortes y A. Enguix Armada

Complejo Hospitalario Virgen de la Victoria. Málaga. España.

Introducción: En población general, la deficiencia selectiva de IgA es considerada la inmunodeficiencia primaria más común y mejor definida en humanos. Se relaciona con la aparición de infecciones respiratorias de diversa gravedad, infestaciones parasitarias, alergias alimentarias y enfermedades autoinmunitarias. La prevalencia de la deficiencia de IgA varía en función de diversos parámetros: área geográfica, el origen étnico, etc. En Europa es aproximadamente de 1/300; en Estados Unidos, dependiendo de la población a estudio, varía de 1/223 a 1/3.000; en Islandia, de 1/633; en Inglaterra, de 1/875; en Brasil, de 1/965, y de 1/100 en Israel. En general, la deficiencia de IgA es más común en caucásicos. Es conocida la relación entre la deficiencia de IgA y la enfermedad celíaca (EC), habiendo estimado algunos autores que esta inmunodeficiencia puede llegar a ser 10 veces más frecuente en personas con enfermedad celíaca que en la población general. Describiéndose que la deficiencia de IgA sérica en pacientes con EC oscila entre el 1,7 y el 2,6%.

Objetivos: Estimar la prevalencia de la deficiencia de IgA en la población general a través de un estudio poblacional mediante los niveles obtenidos de anticuerpos anti-transglutaminasa IgA.

Material y métodos: Selección de muestras (n = 1.365) procedentes de los distritos pertenecientes al área sanitaria de nuestro hospital, de manera aleatoria, y proporcional al Área Sanitaria mediante nuestro programa informático S.I.L. durante 40 días consecutivo. Análisis ELIA Celikey®IgA (ImmunoCAP 250), para la medida cuantitativa in vitro de anticuerpos IgA dirigidos frente a transglutaminasa tisular (tTG) en suero interpolándose a una curva de calibración. Las muestras cuyo valor de IgA frente a tTG obtuvieron un valor cero o indetectable (informado como Low RU) se les cuantificó la IgA sérica total, mediante inmunonefelometría (BNII-Siemens), ante la sospecha de déficit de IgA. Si las cifras de IgA eran inferiores al límite de detección 6.220 mg/dL se interpretó como la existencia de deficiencia de IgA.

Resultados: Del total de muestras a las que se les determinó los AAtTG (n = 1.365) se detectaron 20 casos con un valor cero o inferior (Low RU), cuantificándose posteriormente los niveles de IgA sérica total, de los cuales, únicamente las muestras informadas como Low RU (n = 3) poseían valores por debajo del límite de detección (6,222 mg/dL), interpretándose, por tanto, como deficientes de IgA (1/455).

Conclusiones: La deficiencia de IgA en la población general, según estudios previos de prevalencia, varían en función del área geográfica, etnia, etc., en el caso de estudios de prevalencia existente en Europa oscila en torno al 1/300, por tanto nuestra estimación de la prevalencia de deficientes de IgA (1/455) se asemeja a los estudios previos realizados en Europa.

0006. GLOMERULONEFRITIS SECUNDARIA A POLIANGEÍTIS MICROSCÓPICA EN UN PACIENTE PEDIÁTRICO

A. Martínez Ruiz, J.F. de La Torre Bulnes, N. Sancho Rodríguez, J. Pérez Fornieles, J.G. Calle Luna y P. Martínez Hernández

Hospital Universitario Virgen de La Arrixaca. Murcia. España.

Introducción: Las vasculitis son una serie de enfermedades que tienen en común la presencia de inflamación, necrosis e infiltración de la pared vascular. Los vasos afectados pueden ser de cualquier tamaño y localizarse en diferentes órganos o sistemas. Las lesiones vasculares son más frecuentes en riñón y piel. La afectación

glomerular consiste en una glomerulonefritis necrotizante segmentaria con formación de semilunas. Las membranas basales glomerulares y la cápsula de Bowman están rotas en las áreas de necrosis, las cuales presentan numerosos polimorfonucleares. Un 20% de los pacientes con vasculitis renal presentan enfermedades asociadas. Las vasculitis renales más frecuentes son: la poliangeítis microscópica (PAM), la granulomatosis de Wegener (GW) y el síndrome de Churg Straus (SCHS). La PAM es poco frecuente en pacientes pediátricos, ya que la media de presentación oscila entre los 50 y 60 años. La forma de inicio de la PAM es en la mayoría de los casos extrarenal (60%), afectando fundamentalmente piel y pulmón, o bien renal y extrarenal combinada (38%). El pronóstico actual (con tratamiento) de los pacientes de edad avanzada con PAM es malo si se compara con el de los pacientes más jóvenes. El pronóstico renal depende de la severidad de las lesiones histológicas. Algunos pacientes que superan la fase aguda de la vasculitis llegan a la insuficiencia renal terminal y requieren diálisis. Los más jóvenes son trasplantados.

Caso clínico: Paciente varón de 7 años que acude a la puerta de Urgencias el día 23/02/2011 por epistaxis abundante desde hace una semana. Importante decaimiento con pérdida de peso y diuresis conservada. Datos del laboratorio: Hemograma: hemoglobina 6,3 g/dl (14-18), plaquetas 46.000/ μ L (125-400 $\times$ 10⁹), leucocitos 470/ μ L (4-11 $\times$ 10³). Frotis de sangre: hematíes microcíticos, algunos hipocromos, con presencia de 2% de esquistocitos y 2% de dacriocitos. Reticulocitos bajos. Trombopenia comprobada. Leucopenia con neutropenia severa. Linfocitos normales y no predominio de células atípicas ni blastos. Bioquímica: urea 243 mg/dl (10-50); creatinina 5,23 mg/dl (0,32-0,59); ácido úrico 14,4 mg/dl (3,4-7); calcio 8,3 mg/dl (8,8-10,8); fósforo 7 mg/dl (27-4,5); LDH 338 U/L (135-225); ferritina 771 ng/ml (20-200); PCT 1,11 ng/ml (0-0,5). Resto de parámetros bioquímicos dentro de la normalidad. Coagulación normal. Gasometría: pCO₂ 22 mmHg (35-48); HCO₃⁻ 12,7 mmol/L (21-28); SBC 15 mmol/L (22,5-26,9); tO₂ 3,1 mmol/L (8,4-9,9). Resto de parámetros normales. Sedimento urinario: leucocitos 128/ μ L (0-20); hematíes 80/ μ L (0-20); elevada concentración de proteínas en orina, con presencia aislada de cilindros granulados. El paciente fue ingresado por presentar: epistaxis, fiebre, pancitopenia e insuficiencia renal a estudio. El diagnóstico fue: glomerulonefritis secundaria a vasculitis (poliangeítis microscópica) presentado anticuerpos anti-mieloperoxidasa (p-ANCA) de 89 U/ml (valores normales < 6) y anticuerpos anti-proteinasa 3 (c-ANCA) dentro de los valores normales.

Conclusiones: Las vasculitis con afectación renal predominante se observan de forma creciente en pacientes mayores de 65 años. El manejo de las vasculitis con afectación renal predominante requiere un diagnóstico rápido de la enfermedad y la pronta instauración de un tratamiento inmunosupresor, dirigido a controlar la enfermedad evitando la alta frecuencia de complicaciones.

0007. ESTUDIO DE UN CASO PEDIÁTRICO DE HEPATITIS AUTOINMUNE TIPO II

S. Fernández Paneque, A. Dayaldasani Khialani, M.J. Rodríguez Espinosa, L. Sánchez Godoy y V. Pérez Valero
Hospital Regional Universitario Carlos Haya. Málaga. España.

Introducción: La hepatitis autoinmune es una patología inflamatoria crónica del hígado de etiología desconocida, caracterizada por hepatitis con infiltrado mononuclear y céls. plasmáticas, hiper-gammaglobulinemia y presencia de autoanticuerpos, con una prevalencia aproximada de 17 casos por 100.000 habitantes. Existen 3 tipos principales: tipo I (la más frecuente, afectando a cualquier edad y con presencia de autoanticuerpos del tipo ANA o antinucleares, AMA o antimitocondriales y ocasionales ASMA o antimúsculo liso), tipo II (peor pronóstico y más prevalente en Europa, afectando principalmente a niños y adolescentes y con presencia de LKM

o autoanticuerpos microsomales contra hígado y riñón) y tipo III (la menos prevalente y caracterizada por presencia de anticuerpos antiSLA, un grupo de autoanticuerpos aún no bien definidos). En la presente comunicación se estudia un caso pediátrico de Hepatitis Autoinmune tipo II.

Material y métodos: Presentamos el caso de un varón de 8 años sin antecedentes patológicos de interés que acude al Hospital Materno Infantil de Málaga derivado de un centro privado por un cuadro de ictericia intensa de 3 días de evolución y elevación persistente de bilirrubina (total y directa), transaminasas (aspartato aminotransferasa o AST y alanina aminotransferasa o ALT) y fosfatasa alcalina o ALP, de etiología desconocida.

Resultados: Al ingreso el paciente presenta INR de 1,9 y TPTA de 51,9 seg, una hiperbilirrubinemia de 21,8 mg/dL (directa: 17 mg/dL) e hipertransaminasemia (ASAT 2394 U/L, ALAT 2218 U/L), ALP 466 U/L, proteína C reactiva 8,9 mg/dL, amonio 41 microMol/L e Ig G 1970 mg/dL, y cifras normales de ceruloplasmina, alfa 1 antitripsina, hierro sérico y cobre, observándose negatividad para marcadores serológicos de enfermedades infecciosas (virus de Epstein-Barr, Parvovirus B19, Herpes, citomegalovirus, virus de hepatitis A y hepatitis C) salvo positividad de anticuerpos frente al antígeno de superficie del virus de hepatitis B (posvacunal). Con estos datos se plantea el diagnóstico de Hepatitis autoinmune, al descartarse tanto etiología genética (fenotipo normal de alfa 1 antitripsina y niveles séricos normales de ceruloplasmina, hierro y ferritina), viral (ausencia de marcadores de infección activa para hepatitis A, B y C) o tóxica (no consumo de alcohol ni uso reciente de drogas hepatotóxicas). En el examen mediante Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) se observa fluorescencia positiva en hígado y riñón de rata hasta diluciones de 1/10.240. En el examen mediante técnica de blot se identificó positividad de anticuerpos anti LKM-1, con negatividad de anticuerpos anti M2 y anti LC-1. Con el diagnóstico de laboratorio de Hepatitis autoinmune tipo II, el paciente es tratado con medicación inmunosupresora (prednisona+azatioprina), con evolución favorable hasta recibir el alta y continuar el seguimiento en consulta externa.

Conclusiones: El paciente presentó una puntuación total de 12 en los criterios pretratamiento de hepatitis autoinmune ("hepatitis autoinmune probable"), principalmente por la ausencia de datos histológicos que corroborasen el diagnóstico. Es destacable la buena evolución del paciente tras iniciar el tratamiento inmunosupresor, confirmando de esta manera el diagnóstico de presunción y evitándose la necesidad de biopsia hepática, que se demora para estadiaje, con mayor interés si cabe dado el caso del paciente en edad pediátrica.

0008. COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTIPÉPTIDO CITRULINADO

O. Noguera Moya, D. Benítez Benítez, M. Rodríguez Manotas, B. Jiménez Jiménez e I. Llorca Escuin

Hospital de Orihuela. España.

Introducción: La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad inflamatoria crónica caracterizada por inflamación y dolor articular, que va a producir destrucción articular con gran discapacidad y mortalidad prematura dadas las posibles implicaciones sistémicas (pulmonares, cardíacas, renales, neurológicas, infecciones, etc.). La presencia de autoanticuerpos (factor reumatoide, anticuerpos antipéptido citrulinado (aCCP) que pueden preceder en años la aparición de manifestaciones clínicas, otros autoanticuerpos) hace que se la considere una enfermedad autoinmune. Los criterios clasificatorios empleados hasta ahora han sido los establecidos por el American College of Rheumatology (ACR) (Arnett et al. Arthritis Rheum. 1988;31:315-24). Estos criterios no permiten un diagnóstico precoz sino más bien una clasificación de la AR ya estableci-

da. Con los nuevos criterios clasificatorios (Aletaha et al. Arthritis Rheum. 2010;62:2569-81) se pretende un diagnóstico en las fases iniciales de la enfermedad, lo que permitiría un mayor beneficio para los pacientes al poder instaurarse precozmente los tratamientos adecuados. Los nuevos criterios clasificatorios incluyen, entre otros, la determinación de los anticuerpos antipéptido citrulinado (aCCP).

Objetivos: Determinar el aCCP en nuestro laboratorio. Para ello hemos comparado la determinación de aCCP mediante fluoroinmunoanálisis (CAPsystem), un método con el que trabajábamos hasta ahora en un laboratorio externo, con un método de ELISA.

Material y métodos: Se han analizado 40 sueros de pacientes provenientes del Servicio de Reumatología. A todos se les determinaron los aCCP mediante Fluoroinmunoanálisis (CAPsystem) y mediante ELISA (Immunoscan CCPlus™ Euro-Diagnostica AB. Malmö, Suecia. Distribuido por Dia Sorin. Saluggia, VC. Italia) en el equipo ETI-MAX 3000 (Dia Sorin).

Resultados: En cuanto a la presentación cualitativa de los resultados, la concordancia es del 100% en los sueros estudiados. En el estudio de correlación hecho entre los resultados cuantitativos determinados por uno u otro método la recta de regresión se presenta en la tabla.

	Pendiente (IC95%)	Punto de corte (IC95%)
Mínimos cuadrados	2,42 (2,28-2,57)	3,2 (-19,67-26,06)
Passing-Bablok	2,73 (2,53-3,01)	-11,43 (-13,65- -9,83)

Conclusiones: Dada la enorme variedad de ensayos y antígenos empleados en la determinación de los aCCP, los resultados cuantitativos no son comparables entre sí. No hay transferabilidad de resultados. En cambio la concordancia es del 100% teniendo en cuenta los resultados cualitativos. Así mismo el coeficiente de correlación entre uno y otro método es $r = 0.983$, similar al comunicado por otros autores.

0009. PERFIL HEMORREOLÓGICO EN EL SÍNDROME DE SJÖGREN: ESTUDIO CASO-CONTROL

M. Suescun Giménez, E. Bonet Estruch, M.L. Micó, J. Todolí, J.M. Ricart y A. Vayá Montaña

Hospital Universitario La Fe. Valencia. España.

Introducción: El perfil reológico en el síndrome de Sjögren primario (SS) ha sido escasamente investigado.

Objetivos: En el presente estudio hemos evaluado el perfil reológico (viscosidad sanguínea, viscosidad plasmática, deformabilidad eritrocitaria, agregación eritrocitaria, tiempo de agregación eritrocitaria y tiempo de desagregación eritrocitaria) junto con fibrinógeno, proteína C-reactiva ultrasensible, lípidos plasmáticos, inmunoglobulinas, proteínas totales y velocidad de sedimentación globular en 22 pacientes con SS primario y 22 voluntarios sanos.

Pacientes y métodos: El grupo de pacientes incluye 22 individuos (2 varones y 20 mujeres) con SS primario procedentes del Servicio de Medicina Interna de nuestro hospital. El grupo control comprendió 22 donantes sanos procedentes del Centro de Transfusiones (3 varones, 19 mujeres) sin enfermedades sistémicas autoinmunes. Los parámetros hemoreológicos (viscosidad sanguínea, viscosidad plasmática, deformabilidad eritrocitaria y agregación eritrocitaria) así como la glucosa, el perfil lipídico y las proteínas totales se realizaron de acuerdo con estudios previos de nuestro grupo. La velocidad de sedimentación globular se llevó a cabo en un autoanalizador Vesmatic 30 (MenariniDiagnostics). Las inmunoglobulinas IgA, IgG e IgM se determinaron por nefelometría con antisueros específicos en el autoanalizador BN II (Siemens HealthcareDiagnostics). El fibrinógeno se determinó en un ACL-TOP autoanalizador.

Resultados: Los pacientes mostraron estadísticamente mayor viscosidad plasmática ($1,30 \pm 0,11$ cP vs $1,22 \pm 0,05$ cP; $p = 0,006$),

velocidad de sedimentación globular (27 ± 24 mm/h vs 14 ± 8 mm/h; $p = 0,023$) y niveles de inmunoglobulina G (IgG) (1.248 ± 548 mg/dL vs 955 ± 213 mg/dL; $p = 0,034$) y menor colesterol total que los controles (213 ± 32 mg/dL vs 232 ± 26 mg/dL; $p = 0,036$). Los tres pacientes con afectación extraglandular mostraron los valores de viscosidad plasmática más elevados: 1,98 cP, 1,70 cP y 1,65 cP, respectivamente. No se observaron diferencias significativas en el resto de parámetros reológicos analizados. En un análisis de regresión multivariante, solo fibrinógeno, triglicéridos e IgG fueron variables independientes para los valores de viscosidad plasmática (coeficiente beta: 0,335; $p = 0,001$; coeficiente beta: 0,242; $p = 0,019$; coeficiente beta: 0,660; $p < 0,001$, respectivamente).

Conclusiones: Nuestros resultados indican que los pacientes con SS primario muestran mayor viscosidad plasmática, principalmente relacionado con los niveles de IgG, sin otras alteraciones en el perfil reológico. Sería conveniente realizar futuras investigaciones con un mayor tamaño muestral mediante estudios multicéntricos.

0010. ANTICUERPOS ANTI-SSA/RO: IMPORTANCIA DIAGNÓSTICA EN RANGO DUDOSO

S. Caparrós Cánovas, C. González Rodríguez, R. Mondéjar García, B. Fernández Pérez y M.V. Perna Rodríguez

Hospital Universitario Virgen de la Macarena. Sevilla. España.

Introducción: Los antígenos Ro/SSA son complejos ribonucleoproteicos de pequeño tamaño que se localizan en el núcleo y en el citoplasma celular. Dentro del antígeno SSA/Ro se describen dos epítopes inmunodominantes: uno de 52 KD y otro de 60 KD. Los anticuerpos anti-SSA/Ro se encuentran en el 60% de pacientes con Síndrome de Sjögren, en el 30% de pacientes con LES, en la mayoría de pacientes con lupus cutáneo sub-agudo y en el lupus neonatal. También se encuentran en el 5-8% de pacientes con artritis reumatoidea. En nuestro laboratorio de autoinmunidad, inicialmente se realiza el ENA screening por ELISA; si es positivo, se determinan los ENAs específicos por ELISA (anti-Ro, anti-La, anti-Sm, anti-RNP, anti-Scl70 y anti-Jo1). El anticuerpo anti-SSA/Ro se considera positivo con valores superiores a 40 UI. Valores entre 20-40 se consideran un resultado dudoso. En este caso se estudia por inmunoblotting anticuerpos contra los antígenos de 52 y 60 KD. Se ha considerado la posibilidad de elevar el cut-off de los anticuerpos anti-Ro, de manera que se elimine el rango dudoso, y solo se tenga que realizar el inmunoblotting cuando este sea positivo.

Material y métodos: Se recogen 37 pacientes (26 mujeres y 11 varones) con edades comprendidas entre 30 y 90 años, con diagnóstico conocido, en los que el anticuerpo Anti-SSA/Ro por ELISA tiene un valor en rango dudoso (20-40). Se les realiza el inmunoblotting para determinar si son positivos para las proteínas de 52 y 60 KD.

Resultados: De los 37 pacientes, el 36% presentan enfermedades autoinmunes sistémicas (LES y síndrome de Sjögren), el 24% enfermedades dermatológicas (lupus cutáneo y eritema nodoso en estudio), el 16% enfermedades digestivas (EI y hepatopatías autoinmunes), el 16% otras patologías (DM, HTA) y el 8% AR. De los 37 Anti-Ro dudosos, 17 son positivos para Ro 52 KD, 10 son positivos para Ro 60 KD y 7 son positivos para ambas proteínas. Solo 3 son negativos y no se confirman por inmunoblotting. De los positivos para Ro 52 KD, el 50% corresponden a enfermedades autoinmunes sistémicas, el 21% a enfermedades dermatológicas, el 17% a otras patologías, el 8% a enfermedades digestivas y solo el 4% a AR. De los positivos para Ro 60 KD, el 35% corresponden a enfermedades dermatológicas, el 23% a enfermedades autoinmunes sistémicas, el 18% a enfermedades digestivas, el 12% a AR y el 12% a otras patologías. No presentan otros anticuerpos positivos.

Conclusiones: Se comprueba que dentro del rango dudoso, se confirman por inmunoblotting para las proteínas de 52 y 60 KD en un porcentaje muy importante (92%). Además su presencia es fundamental para el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes,

ya que ningún otro anticuerpo es positivo. Se concluye que no se debe subir el cut-off del anti-Ro, ya que perderíamos en eficacia diagnóstica.

0011. ESTIMACIÓN DE LA PREVALENCIA DE ENFERMEDAD CELÍACA EN ADULTOS MEDIANTE LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-TRANSGLUTAMINASA

I. Castro Vega, A. Serrano Garballo, A.M. Fernández Ramos, B. Pérez Nevot, M. Mayor Reyes, M. Cortes, A. Enguix Armada y G. Ramírez Ramírez

Complejo Hospitalario Virgen de la Victoria. Málaga. España.

Introducción: La enfermedad celíaca (EC), enteropatía sensible al gluten, es una enfermedad crónica autoinmune mediada por linfocitos T y causada por la ingestión de cereales con gluten (trigo, centeno y cebada) en individuos genéticamente susceptibles. La patogenia es el resultado de la interacción entre factores genéticos, inmunológicos y ambientales, existiendo marcadores genéticos específicos como HLA-DQ2 (90%) y HLA-DQ8 (6%). En la EC se induce una característica, aunque no específica, lesión de la mucosa del intestino delgado, atrofia vellositaria, malabsorción y síntomas clínicos, tanto con manifestaciones intestinales como extraintestinales. El tratamiento es fundamental y exclusivamente dietético, mediante una dieta sin gluten (DSG) y con una rápida mejoría tras el cumplimiento estricto de la misma.

Objetivos: Estimar de forma suficientemente aproximada la prevalencia global de la EC en el Área Sanitaria de nuestro hospital mediante un estudio transversal. Utilizando como método de cribado la presencia de anticuerpos frente a la transglutaminasa tisular.

Material y métodos: Selección de muestras procedentes de los distritos sanitarios de manera aleatoria y proporcional al Área Sanitaria mediante nuestro programa informático S.I.L. excluyendo los menores de 14 años. a) Determinación cuantitativa In Vitro de anticuerpos IgA frente a transglutaminasa tisular (tTG) (ELIA Celikey®IgA).VR: positivo > 10 U/mL. b) Detección de anticuerpos anti-endomisio (EMA) de clase IgA [por inmunofluorescencia indirecta (IFI)] (Menarini® Anticuerpos anti-endomisio (EMA), cortes de esófago distal de mono). c) Determinación cuantitativa de inmunoglobulinas IgA mediante inmunonefelometría [sistema BNII (Siemens®)]. VR: 0,7-4,0 g/l. IgAs límite de detección: 6.220 mg/dL. En caso de deficientes de IgA se determinaron los anticuerpos correspondientes de clase IgG (Elia Celikey®IgG Wells, EMA IgG). Paquete estadístico Microsoft Excell 2007.

Resultados: Media de edad: 51,2 ± 18,72 años, distribución por sexo: femenino 65,50% (n = 894), 34,50% masculino (n = 471). De los 1.365 pacientes, n = 1.359 presentaron AAtTG negativos y n = 6 positivos (1/227) los cuales se confirmaron por EMA resultando positivos los 6, con edades entre los 22 y los 80 años y siendo todos mujeres.

Conclusiones: La EC es cada vez más frecuente en adultos apareciendo incluso en edades tardías pudiendo presentarse con manifestaciones clínicas variadas (síntomas digestivos leves, extradigestivos o formas silentes). En nuestro estudio dos pacientes no presentaban ningún tipo de sintomatología digestiva mientras que tres presentaban sintomatología gastrointestinal leve e inespecífica y una paciente presentaba sintomatología digestiva y duodenitis crónica; cinco de los seis pacientes detectados presentaban anemia ferropénica crónica y una de ellas patología tiroidea autoinmune (enfermedad de Graves-Basedow). La extensa heterogeneidad de las manifestaciones clínicas justifica la dificultad en establecer la verdadera prevalencia de la EC. Gracias tanto al desarrollo de nuevos métodos serológicos específicos que permiten estudiar muestras de población general como el conocimiento de la gran heterogeneidad en las formas de presentación clínica, sus enfermedades asociadas y la

mejor definición y cribado de grupos de riesgo han llevado a un aumento del número de pacientes diagnosticados de EC. Estas premisas hacen especialmente relevante el papel del médico de familia en atención primaria, en cuanto a la sospecha y búsqueda activa de nuevos casos.

0012. ANÁLISIS DE LA DEMANDA Y RESULTADOS DE ANTICUERPOS ANTI SCL-70 Y ANTI JO-1 EN EL ÁREA SANITARIA DE LOGROÑO

L. Rodríguez Alonso, J. Crettaz, M.J. Flecha Aller, V. Recuero García, T. Navajas Jalón y M.S. Jareño Blanco

Hospital San Pedro. Logroño. España.

Introducción: Los anticuerpos anti Scl-70 son anticuerpos dirigidos contra el antígeno Scl-70, una proteína cromosómica básica no histona. Su determinación en la esclerosis sistémica proporciona una información diagnóstica y pronóstica importante. Son muy específicos de la esclerodermia en su forma difusa y más severa apareciendo hasta en un 70% y su presencia incrementa el riesgo de fibrosis pulmonar. La presencia de anti Scl-70 junto con el fenómeno de Raynaud orienta hacia un mal pronóstico. Los anticuerpos antiJo-1 son anticuerpos tipo IgG dirigidos contra la histidil-tRNA sintetasa que cataliza la unión de la histidina a su tRNA durante la síntesis de proteínas. Son marcadores específicos de las miopatías inflamatorias idiopáticas y se encuentran en el 20-30% de los pacientes con polimiositis y el 60-70% de los que tienen fibrosis pulmonar intersticial. Los pacientes con anti Jo-1 tienden a presentar una forma más grave de la enfermedad con tendencia a la recaída y peor pronóstico.

Objetivos: Analizar la demanda y resultados de los anticuerpos anti Scl-70 y anti Jo-1 durante 2 años en el área sanitaria de Logroño.

Material y métodos: Estudio bianual retrospectivo (mayo 2009-mayo 2011). La determinación de anticuerpos anti Scl-70 y anticuerpos anti Jo-1 se realizó mediante ELIA IgG en un equipo Inmucap 250 de Phadia (fluoroimmunoensayo).

Resultados: Se analizaron 257 peticiones de anticuerpos anti Scl-70 de las cuales 6 fueron positivas (2.3%) y 251 negativas (97.7%). Los seis resultados positivos correspondieron a mujeres. Cinco fueron diagnosticadas de esclerodermia, con fenómeno de Raynaud intermitente, presentando una de ellas fibrosis bibasal (título de anti Scl-70 más alto). La otra petición corresponde a una mujer sin datos clínicos de esclerodermia, pero que sí presentaba fenómeno de Raynaud. Además, se procesaron 231 peticiones de anticuerpos anti Jo-1, de las cuales 6 fueron positivas (2,6%) y 225 negativas (97,4%). Las seis peticiones positivas se reparten entre tres pacientes distintos. Tres pertenecen a una mujer diagnosticada de dermatomiositis con neumonitis intersticial. Otros dos resultados positivos corresponden a otra mujer diagnosticada de polimiositis/dermatomiositis. Ambas mujeres están en seguimiento por Reumatología y en las dos hay un descenso de los títulos de anti Jo-1 a lo largo de estos 2 años, debido al tratamiento. La sexta petición con resultado positivo corresponde a un hombre con diagnóstico de artropatía psoriásica y espondilodiscitis.

Conclusiones: Baja incidencia de anticuerpos anti Scl-70 y anti Jo-1 en nuestra área sanitaria, por lo que estas peticiones habría que realizarlas con una clara orientación diagnóstica. Los anticuerpos anti Scl-70 son prácticamente específicos de esclerodermia/esclerosis sistémica. Es destacable su uso en el diagnóstico y valoración pronóstica de los pacientes con fenómeno de Raynaud aislado, ya que su detección orienta hacia el desarrollo posterior de esclerodermia. Los resultados positivos de anticuerpos anti Jo-1 son claramente específicos y de gran utilidad diagnóstica dentro del estudio autoinmune de las miopatías.

0013. PROTEÍNA C REACTIVA COMO MARCADOR DE INFLAMACIÓN EN ENFERMEDAD CELÍACA

A. Muñoz Colmenero y E. Ocaña Pérez

UGC de Laboratorio y Alergología. Laboratorio de Inmunología.
Complejo Hospitalario de Jaén. España.

Introducción: La enfermedad celíaca (EC) es una enteropatía en la que la ingesta de gluten produce inflamación crónica y daños en la mucosa del intestino delgado, cuya lesión oscila desde casos leves con ligera aparición de linfocitos intraepiteliales hasta formas avanzadas de atrofia, que tienden a desaparecer tras la retirada del gluten de la dieta. Estos linfocitos van a liberar mediadores de inflamación, poniendo en marcha una respuesta inflamatoria que va a determinar los cambios histológicos característicos de esta enfermedad. Las pruebas de la EC se utilizan principalmente para el cribado y el diagnóstico, aunque también se solicitan otras pruebas que ayudan a determinar la severidad de la enfermedad. Entre estas pruebas se incluye la proteína C reactiva (PCR), para evaluar el estado inflamatorio. La PCR es un reactante de fase aguda y su nivel aumenta durante los procesos inflamatorios. Este incremento es inducido por mediadores de la inflamación como la IL-6, que es producida por macrófagos, células endoteliales y linfocitos T.

Objetivos: Estudiar la utilidad clínica de la PCR como marcador de inflamación en la EC y su relación con el daño intestinal.

Material y métodos: Se analizaron los niveles de PCR en pacientes con Ac anti-transglutaminasa positivos (AATTG) (AATTG > 10 U/mL) (n = 97) y en un grupo control, se excluyeron pacientes con patología inflamatoria (n = 100). La determinación de PCR se realizó por nefelometría (BN-II, Siemens) y la de los AATTG se llevó a cabo mediante ELISA (Orgentec, Palex Diagnostic). El análisis estadístico de los datos se realizó con el paquete estadístico SPSS 15.0. La comparación estadística entre los diferentes grupos se llevó a cabo mediante el test t-Student, aceptando $p < 0,05$ como nivel de significación.

Resultados: El valor medio de PCR encontrado en el grupo control fue 3,06 mg/L (0-29,4 mg/L), y en el grupo de pacientes con AATTG positivos fue 3,92 (0-68,8 mg/L), no encontrándose diferencias significativas entre ambos grupos. En el grupo de pacientes se detectaron niveles de PCR elevados en un 6,18% de pacientes y en el grupo control en un 15% de pacientes. Tampoco se encontró ninguna correlación entre los niveles de AATTG y los niveles de PCR, que mostrara la utilidad clínica de la PCR como marcador de lesión intestinal.

Conclusiones: De acuerdo con nuestros datos, la PCR no tiene ninguna utilidad clínica como marcador de inflamación en EC. Tampoco es un buen marcador de lesión intestinal. Por lo tanto, la PCR debería ser excluida del perfil de pruebas solicitadas a estos pacientes, e intentar buscar otros marcadores útiles de inflamación en EC.

0014. DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDAD CELÍACA DE NOVO REALIZADA MEDIANTE ANTICUERPOS ANTIGLUTAMINASA IGA, ANTICUERPOS ANTIGLIADINA IGA Y BIOPSIA INTESTINAL

A. Pérez Hernández, V. Villalta Robles, M.A. Rey Múgica, H. Muñoz Alcón y M.J. Jiménez Cobaleda

Hospital General de Segovia. España.

Introducción: Enfermedad celíaca (EC) es una enteropatía de base inmunológica debida a la intolerancia permanente al gluten. Está asociada al HLA de clase II (principalmente DQ2/DQ8), su presencia es condición necesaria pero no suficiente para desarrollar la enfermedad. El diagnóstico se establece mediante una combinación de hallazgos clínicos, serológicos y morfológicos. No obstante, la biopsia endoscópica del intestino delgado (BI) sigue constituyendo la clave diagnóstica de la enfermedad. Los anticuerpos an-

tigliadina (AAG) se dirigen contra determinantes antigénicos de la α -gliadina, sin embargo estos anticuerpos no son específicos de EC, pudiendo encontrarse en otras patologías e incluso en controles normales. La transglutaminasa (tTG) es el antígeno principal con el que reacciona los anticuerpos antiendomiso (AEm), sin embargo es posible que existan otros antígenos menores del endomiso con capacidad para unirse a AEm. Tiene mayor especificidad que los AAG pero ambos marcadores muestran una pérdida de sensibilidad en los casos de alteraciones parciales de la mucosa intestinal. También es posible encontrar positividad sin alteración de la mucosa o con alteraciones leves (Marsh I).

Objetivos: Evaluar la capacidad diagnóstica de los anticuerpos anti-tTG y la relación de estos con los AAG y la BI en la EC de novo.

Material y métodos: Estudio descriptivo observacional retrospectivo desde enero de 2009 hasta diciembre de 2010 en pacientes con sospecha de EC en nuestra área sanitaria. Se incluyeron en el estudio aquellos pacientes de primer diagnóstico en los que se había realizado los dos marcadores serológicos. La BI se realizó en pacientes con marcadores serológicos positivos y según sus características individuales. Se analizaron los marcadores en suero mediante ensayo inmunoquímico en fase sólida: AESKULISA tTG-A y AESKULISA GliA-A, mediante la plataforma analítica Triturus (Grifols Diagnostics®). Los datos se analizaron con SPSS 15.0.

Resultados y conclusiones: el total de las peticiones en las que se determinó anti-tTG y AAG fue $n = 2354$. De estos fueron positivos en diagnóstico de novo para anti-tTG ($> 15,0$ U/mL); $n = 79$ (3,35%); mujeres 60,8% y hombres 30,2%. Mediana de edad 45 años (entre 7 y 89 años). Se realizó la biopsia al 69,6% de pacientes diagnosticados de novo, la distribución de la BI mediante la clasificación modificada de Marsh fue: Grado 0 13,9%, Grado I 31,6%; Grado II 1,3%; Grado III-A 3,8%; Grado III-B 10,1%; Grado III-C 7,6%. El Grado 0 se consideró como sano, en el Grado I existe infiltración inflamatoria pero no es exclusiva de EC, los Grados II, III-A, III-B y III-C se consideró EC. Analizados mediante ANOVA de un factor se concluye que la anti-tTG es capaz de diferenciar los Grados de enfermedad de los Grados 0 y I ($p < 0,0001$). Sin embargo no diferencia el Grado 0 del Grado I ($p > 0,5$). Por otro lado la AAG solo es capaz de diferenciar el Grado 0 de los Grados de enfermedad con menor potencia ($p < 0,05$). En conclusión, la anti-tTG es más específica pero en ningún caso es diagnóstica y aunque la biopsia es el gold standard siempre debe acompañarse de datos clínicos para el diagnóstico definitivo.

0015. DETECCIÓN DE AUTOANTICUERPOS POR INMUNOBLOTTING EN PACIENTES SERONEGATIVOS POR INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA

M.D. Blanco Blanco, C. Bernabé Hidalgo, A. Abellán Martínez y M.C. Gallego Ramírez

Hospital Rafael Méndez. Lorca. Murcia. España.

Introducción: Ante la sospecha de enfermedad autoinmune sistémica, la metodología más empleada para la detección sérica de autoanticuerpos es la IFI. Ante un resultado negativo, y si no se reúnen criterios clínicos, se puede descartar razonablemente la existencia de enfermedad autoinmune. En estos casos, debe seguirse un protocolo para la detección de anticuerpos nucleares extraíbles (ENAs) y anticuerpos anti-DNA. No obstante, hay que tener presente que existen patologías como las formas iniciales de esclerodermia, polimiositis, artritis, e incluso lupus eritematoso sistémico, etc., que pueden cursar con ANA negativos por inmunofluorescencia. En estos casos, y siempre que exista una sospecha clínica, deben emplearse métodos más específicos, como inmunoblotting (Inno-LIA), para la detección de los autoanticuerpos responsables de la enfermedad autoinmune.

Objetivos: Detectar e identificar autoanticuerpos por enzimo-inmunoanálisis e inmunoblotting, en muestras negativas para ANA por IFI, en las que existe sospecha clínica de enfermedad autoinmune sistémica.

Material y métodos: Durante 18 meses, se seleccionan 34 muestras de 3.650 recibidas para estudio de autoanticuerpos. Todas eran negativas para ANA por IFI y presentaban sospecha de enfermedad autoinmune. 28 pertenecen a mujeres y 6 a hombres; media de edad 45,4 años, en mujeres 46,7, y en hombres 39,2. Para inmunofluorescencia se utilizan portas con células Hep-2 (Palex-Medical). El estudio se continúa, realizando determinación de ENAs, por ELISA, que utiliza una mezcla de proteínas recombinantes humanas: U1RNP, SSA, SSB, centrómero, Scl-70, Jo-1 y proteínas Sm nativas purificadas (Phadia-Sweden). Además, a todas, se les realiza un inmunoblotting (Innogenetics), que utiliza antígenos recombinantes, sintéticos y proteínas naturales, y es capaz de detectar trece tipos de anticuerpos.

Resultados: De las 34 muestras, 28 fueron negativas para ENAs y 6 positivas débil. En todos los casos el inmunoblotting fue positivo, apareciendo los antígenos: Scl-70 en 13 casos (9 individualmente y resto asociado a otros antígenos como Sm/RNP), RNP positivo en 9 muestras (3 individualmente y resto asociado a Scl-70, Jo-1, Sm), Histonas positivo en 8 muestras (3 individualmente y resto asociado a RNP o SSB), Sm positivo en 5 casos (asociado a otros antígenos), SSB positivo en 5 muestras (3 individualmente y 2 asociado a Sm/Histonas), SSA en 2 casos (uno individual y otro asociado a Sm) y 2 casos de autoantígenos ribosomales asociados a Sm.

Conclusiones: El número de casos de ANA negativo por IFI e inmunoblotting positivo es bajo, aunque hay que pensar en esta situación, cuando haya una clínica sugerente de enfermedad autoinmune, y utilizar técnicas más específicas que identifican los autoanticuerpos responsables de estas enfermedades. El autoantígeno más frecuentemente identificado por inmunoblotting en nuestro estudio es Scl-70, seguido de RNP y de Histonas; menos frecuentes son SSB, SSA, Sm y Ribosomal. Suelen aparecer asociados a otros antígenos, y en algunos casos, individualmente. En nuestra muestra, como ocurre generalmente en las enfermedades autoinmunes, hay más afectación en mujeres que en hombres.

0016. VALORACIÓN DE LA AUTOINMUNIDAD SEROLÓGICA EN EL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE DIABETES MELLITUS

M.J. Medina Corpas, O. Medina Medina, V. Marín Parrilla y E. Ocaña Pérez

Complejo Hospitalario Ciudad de Jaén. España.

Introducción: La diabetes mellitus (DM) es una de las enfermedades con mayor impacto sociosanitario tiene una elevada prevalencia. En España 6,2%. Conlleva una serie de complicaciones crónicas y una elevada tasa de mortalidad. En general, existen dos formas de diabetes, la tipo 1 y la tipo 2, además existe una forma autoinmune, que se encuentra a horcajadas entre las dos anteriores se denomina LADA (Latent Autoimmune diabetes of adult) y se manifiesta a partir de los 30 años de edad. La determinación serológica de anti-GAD (Anticuerpos contra la glutamato descarboxilasa) y de anti-IA2 (antiinsulina) ayudarían al diagnóstico correcto de LADA. Consecuentemente este tipo de pacientes de beneficiarían de un tratamiento precoz con insulina.

Objetivos: Conocer la prevalencia de DM tipo LADA en la provincia de Jaén de dos Centros de Salud de la provincia. Conocer perfil de los pacientes diabéticos. Conocer los factores asociados al mal control metabólico de los pacientes diabéticos.

Material y métodos: Realizamos un estudio descriptivo transversal de prevalencia de 280 pacientes para una prevalencia del 10%, precisión del 5% y una confianza del 99%, realizando un mues-

treo aleatorio simple correspondientes a diabéticos tipo 2, que se encuentran en tratamiento con antidiabéticos orales (ADOs). Los criterios de inclusión de los pacientes en el estudio fueron: edad > 25 años en el momento del diagnóstico, DM tipo 2 en tratamiento con ADO's. Las variables del estudio: Edad, sexo, niveles de anti-Gad y anti-IA2, niveles de HbA1c, colesterol total, colesterol-LDL, triglicéridos y microalbuminuria. El análisis de los datos se llevo a cabo con el paquete estadístico SPSS.

Resultados: La edad media de los pacientes fue $52 \pm 6,1$ años, el 64,5% fueron varones. Respecto a los parámetros bioquímicos analizados, los resultados fueron los siguientes: niveles de HbA1c $6,9 \pm 1,2\%$, colesterol $203,1 \pm 47,39$ unidades, LDL 121 ± 43 , triglicéridos 160 ± 72 y microalbuminuria $9,9 \pm 12,8$, anticuerpos AntiGAD 4/141 (2,8%), anticuerpos antiIA2 4/141 (2,8%). No existen diferencias significativas entre hombres y mujeres. Solo se encontró presencia de anticuerpos en el 5% de los pacientes.

Conclusiones: Prevalencia de DM tipo LADA es del 5%. El perfil del paciente diabético es varón, con una edad media de 52 años con un buen control metabólico. La presencia de Ac no está relacionada con un mal control metabólico por parte del paciente.

0017. EVALUACIÓN DE LOS ANTICUERPOS ANTI-SACCHAROMYCES CEREVISIAE EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

Y. Naranjo Santana, M. Prieto Alcedo, A. Fulgencio González e I. Alarcón Torres

Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín. Las Palmas de Gran Canaria. España.

Introducción: Los anticuerpos anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) están dirigidos frente a una glicoproteína de 200 kDa. Estos anticuerpos son marcadores de enfermedad inflamatoria intestinal (EII), y se encuentran más frecuentemente en pacientes con enfermedad de Crohn (ECr) que en la colitis ulcerosa (CU) y que en otras enfermedades autoinmunes (EAI) diversas. El estudio previo de estos marcadores serológicos adquiere en la actualidad una relevancia considerable para la evaluación de estos pacientes ya que nos proporciona una nueva herramienta complementaria a otras técnicas más agresivas y necesarias para su diagnóstico definitivo.

Objetivos: Evaluar en nuestro medio el comportamiento de estos marcadores de EII, junto con los anticuerpos anti-nucleares (ANA) y los anti-citoplasma de neutrófilo (ANCA), en muestras de suero de pacientes con ECr y CU con respecto a otras EAI.

Material y métodos: Para ello, se han evaluado 210 muestras de suero de 102 varones y 108 mujeres entre los 2 y 84 años de edad. Se han analizado los resultados de 92 pacientes con ECr, 42 pacientes con CU y de 55 pacientes con otras EAI. Se ha realizado la determinación de los ASCA de tipo IgG e IgA mediante un ELISA monotest en el analizador Alegria®-Orgentec-Palex Medical SA, los ANA sobre células Hep-2 y los ANCA sobre neutrófilos fijados en etanol por IFI de Zenit-Menarini Diagnostics.

Resultados: Se han detectado ANA positivos en el 37% de los pacientes con otras enfermedades diversas sin EII, 63% de pacientes con CU y en 64% de pacientes con ECr y ANCA positivos en el 10% de pacientes sin EII, en el 56% de las CU y en 14% de ECr. En el grupo sin EII encontramos un (3/55) 5,5% de pacientes con ASCA-G y ningún paciente (0/55) de nuestro grupo presentaba positividad frente a los ASCA-A. En el grupo de CU, un 2,4% (1/42) de ellos presentaban ASCA-A positivos y el 12% (5/42) eran positivos para ASCA-G, mientras que en el grupo de ECr, un 35% (32/92) tenían ASCA-A positivos y un 51% (47/92) de positividad de los ASCA-G.

Conclusiones: A la vista de estos resultados, en nuestro medio podemos constatar la alta prevalencia de los ASCA positivos en los

pacientes con ECr, en especial de los ASCA-IgG, y el predominio de ANCA positivos en los pacientes con CU, por lo que estos marcadores pueden ser de gran utilidad en el diagnóstico diferencial entre ECr, CU y otras EAI.

0018. PROTOCOLO DIAGNÓSTICO PARA EL MANEJO DE LOS AUTOANTICUERPOS EN LA ENFERMEDAD AMPOLLOSA AUTOINMUNE EN EL LABORATORIO CLÍNICO

I. Alarcón Torres, Y. Naranjo Santana, M. Prieto Alcedo, P. Nogueira Salgueiro y A. Fulgencio González

Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín. Las Palmas de Gran Canaria. España.

Introducción: Las enfermedades ampollas autoinmunes (EAA) son poco frecuentes, presentan anticuerpos (Ac) dirigidos contra proteínas que forman parte de las estructuras de adhesión intercelular. Los Ac implicados son los antisustancia intercelular (ICS) dirigidos contra proteínas de los desmosomas (DM) de la unión intercelular, las desmogleínas 1 y 3 (Dsg-1/Dsg-3), y los antimembrana basal (MB) dirigidos frente a la unión dermoepidérmica (UDE), contra proteínas de los hemidesmosomas (HDM) de 230 kDa (Ag mayor; bp230) y 180 kDa (Ag menor; bp180). Las EAA se subdividen en dos grupos, las formas intradérmicas, que afectan a DM, constituyen los pénfigos que se asocian a Ac anti-ICS y anti-Dsg y las subepidérmicas, que afectan a HDM, constituyen los penfigoides con Ac anti-MB y anti-bp180.

Objetivos: Nuestro objetivo es presentar el protocolo establecido por el "Autoimmune Diagnostics Working Group" (Eking et al. Clin Chem Lab Med. 2006;44:144-9) para el estudio de los Ac en los pacientes con EAA, que se aplica en nuestro laboratorio en colaboración con el servicio de Dermatología.

Material y métodos: Entre los años 2008-2011, se aplicó este protocolo en 127 pacientes, de los cuales se seleccionaron 83 diagnosticados de EAA. Para la confirmación del diagnóstico, se realizó la detección histológica de Ac depositados en piel mediante inmunofluorescencia directa (IFD). Para la detección de los distintos Ac en suero se utilizó la inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre tejido de esófago distal de mono para determinar los anti-ICS y anti-MB y ELISA con antígenos recombinantes para los anti-Dsg 1 y 3 y anti-bp180 frente a la región NC16A.

Resultados: Los pacientes se clasificaron en tres grupos: A con 37% (31/83) de pacientes con pénfigo, B con un 52% (43/83) con penfigoide y C con el 11% (9/83) de EAA que no pudieron ser clínicamente clasificadas. Se detectaron autoanticuerpos positivos en el 76% (63/83) de los pacientes. En el grupo A encontramos un 71% (22/31) de pacientes con anti-ICS+, un 77% (24/31) con anti-Dsg+ y 84% (26/31) con anti-ICS y/o anti-Dsg+. Un 3% (1/31) presentaron anti-MB+ y ninguno de ellos presentó anti-bp180+ en este grupo. En el grupo B, un 46% (20/43) de pacientes tenían anti-MB+, un 75% (32/43) anti-bp180+ y un 84% (36/43) anti-MB y/o anti-bp180+. Un 5% (4/43) tenían anti-Dsg+ y un 39% (17/43) anti-ICS+. En estos 17 pacientes con penfigoide y anti-ICS+, 14 de ellos tenían anti-bp180+. Observamos que, si se utiliza únicamente la IFI para el estudio de la EAA, solo el 71% de pacientes con pénfigo y el 46% en el caso de los penfigoides estarían correctamente diagnosticados. Mientras que, si se utiliza la batería completa de autoanticuerpos (IFI y ELISA) que recomienda el protocolo, el 84% de los pacientes, tanto del grupo de pénfigo como de penfigoide, estarían correctamente diagnosticados.

Conclusiones: Es fundamental utilizar un protocolo que contemple la determinación de todos los autoanticuerpos, anti-ICS, MB, Dsg 1 y 3 y bp180, para el manejo consensuado de las EAA en el laboratorio para establecer un correcto diagnóstico.

0019. DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDAD CELIACA: FALSA POSITIVIDAD DE ANTICUERPOS ANTITRANSGLUTAMINASA. VALOR DE LOS ANTICUERPOS ANTIENDOMISIO

L.M. Camargo Bello^a, B. González Trujillos^a, L. Sivera Monzón^b, J. Asensio Antón^a, J. Jiménez Jiménez^c, J. Otero de Becerra^a y C. Hernando de Larramendi^c

^aHospital Infantil Universitario Niño Jesús. Madrid. España.

^bHospital Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares. Madrid. España.

^cHospital Severo Ochoa. Leganés. Madrid. España.

Introducción: La transglutaminasa tisular (tTG) es un autoantígeno de la enfermedad celiaca (EC), por eso sus anticuerpos se utilizan en el diagnóstico y seguimiento de la EC, pero la tTG se encuentra presente también en el endotelio vascular y juega un papel importante en la diferenciación celular, apoptosis y regeneración hepática, entre otros lugares, por lo que puede presentar valores elevados en patologías que compartan manifestaciones clínicas con la EC.

Objetivos: Valorar en un estudio retrospectivo la falsa positividad de tTG como marcador de EC, utilizando en los casos dudosos como prueba de confirmación los anticuerpos antiendomiso (EMS).

Material y métodos: Se seleccionaron 465 muestras de pacientes de ambos sexos entre 1 y 49 años, del periodo comprendido entre 4/01/2011 al 17/05/2011, a los que se les había solicitado simultáneamente virus, citomegalovirus (CMV) IgG e IgM, Epstein Barr (EBV) IgG e IgM y papilomavirus (PVH) y tTG. Tenían realizado por protocolo, IgG e IgM de CMV y EBV (AxSym. ABBOTT), HPV (biología molecular DNA HPV) aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT) y fosfatasa alcalina (ALP) mediante un Synchro Dx C8801 de Beckman Coulter). Anti tTG y cuando procedía ac. anti gliadina (AAG) mediante InmunoCAP 100 de Phadia. EMS (inmunofluorescencia indirecta en sustrato de esófago de mono. ATOM), en aquellos casos con casos tTG positiva. Se excluyeron para el estudio los pacientes con resultados dentro de la normalidad, quedando 61 pacientes con positividad a alguno de los parámetros estudiados. Estudio estadístico: Excel 2007.

Resultados: Se hallaron 35 pacientes (57,3%) con resultados positivos frente a virus. CMV+ IgG 24 (39,3%); CMV+ IgM 7 (11,5%); CMV+ IgG e IgM 5 (8,2%); EBV+ IgG 24 (39,3%); EBV+ IgM 3 (4,9%); EBV+ IgG e IgM 3 (4,9%) y PVH+ 1 (1,6%). La función hepática estaba alterada en 9 pacientes (14,7%). Los valores medios de AST, ALT y ALP fueron respectivamente 57 U/L (25-701), 45 U/L (12-368) y 185 U/L (85-456). La tTG fue positiva en 3 pacientes (4,9%) con valor medio de 42,3 U/L (VR < 3,5 U/L), a todos ellos se les realizó AAG valor medio 92,8 U/L (VR < 10) y EMS que solo fueron positivos en dos pacientes, en el otro paciente con un valor de tTG de 59 U/L fueron repetidamente negativo a 1/5, siendo PVH+ genotipo 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 58, 66 y 68. La tTG se normalizó paralelamente a la normalización de su proceso viral.

Conclusiones: Los EMS son la prueba serológica de confirmación de tTG positivas para el diagnóstico de EC. Pueden aparecer resultados positivos de tTG debido a su actividad en la apoptosis y en la diferenciación celular. No se puede concluir que la presencia de infección por virus hepatotrofos produzca elevación de tTG. Es importante valorar la clínica del paciente en casos dudosos, y la relación clínico-laboratorio.

0020. UN VALOR AÑADIDO EN EL ESTUDIO DE ENFERMEDAD CELIACA

J. Jiménez Jiménez^a, J. Asensio Antón^b, J. Otero de Becerra^b y C. Hernando de Larramendi Martínez^a

^aHospital Severo Ochoa. Leganés. Madrid. España. ^bHospital Infantil Universitario Niño Jesús. Madrid. España.

Introducción: En el momento actual existe una amplia oferta en cuanto a la tecnología para la realización de autoinmunidad, obliga

a los laboratorios a tratar de elegir la técnica más adecuada en cuanto a coste y practicabilidad. La existencia de un concurso para provisión de reactivos nos permitió la introducción en nuestro laboratorio de una nueva tecnología. El primer paso en el estudio de enfermedad celiaca (EC) desde el laboratorio es la determinación de transglutaminasa tisular humana IgA (t-TG IgA) asociada a la determinación de inmunoglobulina IgA sérica total (IgA) para evitar falsos negativos en aquellos pacientes en que exista un déficit de IgA. El análisis de t-TG IgA mediante el inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA) realizado en un instrumento ZENIT ra Analyser, nos proporciona un valor añadido, además de la cuantificación de t-TG IgA, permite determinar en el mismo análisis IgA total. Las concentraciones de IgA en esta metodología se expresan en unidades arbitrarias (UA/ml), aplicando el siguiente factor de conversión: 0,8 UA/ml = 25 mg/dl de IgA. Resultados por debajo de = 0,8 UA/ml se consideran déficit de IgA. La implementación de esta técnica en nuestro laboratorio nos permitiría prescindir de la obligada determinación de IgA total.

Objetivos: Valorar la aplicabilidad de la determinación de t-TGlgA (CLIA) y la posibilidad de evitar la determinación de IgA en el estudio de EC.

Pacientes y métodos: Se analiza un grupo de 874 pacientes a los que se le solicitó estudio de EC (t-TG IgA e IgA), así como otro grupo de 22 pacientes en los que se forzó el déficit de IgA mediante diluciones con PBS, consiguiendo concentraciones de IgA < 5,91 mg/dl. A los dos grupos se les determinó IgA (nefelometría, BNII. Siemens) y t-TG IgA (CLIA). A.MENARINI diagnostics.

Resultados: En el grupo de 874 pacientes, 12 presentaban t-TGlgA < 0,8 UA/ml. La concentración de IgA en estos pacientes fue < 5,91 mg/dl confirmándose que se trataba de pacientes afectados de "déficit de IgA". El resto de pacientes de este grupo presentaron t-TGlgA > 0,8 UA/ml y concentración de IgA dentro del rango de referencia. Dentro del grupo de 22 pacientes con déficit de IgA obtenido mediante dilución, todos presentaron t-TGlgA < 0,8 UA/ml y concentración de IgA < 5,91 mg/dl.

Conclusiones: Todas las muestras confirmadas como déficit de IgA tuvieron t-TGlgA < 0,8 UA/ml, mientras que el resto presentaban IgA en rango de normalidad y t-TGlgA > 0,8 UA/ml. La implementación de la nueva tecnología permitiría reducir el número de determinaciones de IgA en un 98,6% lo que conllevaría un elevado ahorro y la posible derivación de los recursos hacia la puesta en marcha de otras técnicas a añadir a la cartera de servicios. Solo se realizarían aquellas en que los anticuerpos anti-t-TG IgA fueran < 0,8 UA/ml.

0021. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE FRECUENCIAS DE REACTIVIDAD DE ALERGIAS RESPIRATORIAS EN EL HUSC EN EL AÑO 2010

J. Mora Vallengano, A. Poyatos Andújar, S. García Linares, R. Ruiz Requena y T. de Haro Muñoz

Hospital Clínico Universitario San Cecilio. Granada. España.

Introducción: Los fenómenos de alergia son muy prevalentes en nuestra población. Entre los métodos de cribado de alergia respiratoria más utilizados se encuentra el phadiatop (Phadia AB, Sweden), que cubre el espectro de alérgenos más frecuente en nuestro medio.

Objetivos: Conocer el número de estudios de alérgenos inhalantes (Phadiatop®) solicitadas a nuestro servicio durante el año 2010. Y al mismo tiempo, determinar la proporción de pacientes positivos a dichos alérgenos atendiendo a la clasificación según edad, sexo y clases.

Material y métodos: Se realizó un estudio retrospectivo de todas las solicitudes recibidas a nuestro servicio durante el año 2010, utilizando como analizador un ImmunoCAP 250 (Phadia AB, Suecia). La metodología empleada para la medición fue un ELISA fluorimétrico;

siguiendo el siguiente algoritmo: si phadiatop sale positivo, se abre un panel con las determinaciones: d2-Dermatophagoides farinae, d73-Glycyphagus domesticus, e1-caspa de gato, e5-caspa de perro, g5-ballico, m6-Alternaria tenuis, t9-olivo, t11-plátano de sombra, t23-ciprés y w21-parietaria. Se obtuvo una base de datos de todas las peticiones analizadas a partir del SIL. Los datos se agruparon en función del rango de edad (0-15 años y > 15 años), del sexo y de la reactividad (clase 0: < 0,35 nivel indetectable, clase 1: 0,35-0,7 nivel bajo, clase 2: 0,7-3,5 nivel moderado, clase 3: 3,5-17,5 nivel alto, clase 4: 17,5-50 nivel alto, clase 5: 50-100 nivel muy alto, clase 6: > 100 nivel muy alto) siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Resultados: Se analizaron un total de 6.894 peticiones, de las cuales un 56,1% eran mujeres. Un 34% de población infantil menor de 15 años. En el análisis específico por alérgenos, en nuestro medio los tres alérgenos en los que hemos detectado mayor reactividad (clase > 3) son t9-Olivo (27,1%), g5-Ballico (*Lolium perenne*) (16,6%), d2-Dermatophagoides farinae (9%). La sensibilizaciones detectadas en nuestro medio son similares tanto en población adulta como infantil (44,6% vs 45,7%). Se observó en varones menores de 15 años títulos más elevados que en mujeres de edad pediátrica en todos los alérgenos estudiados. En mujeres mayores de 15 años encontramos títulos más elevados que en hombres de su misma edad en los siguientes alérgenos: e1, e5, t9 y t23.

Conclusiones: El laboratorio clínico ofrece en la actualidad al alergólogo un apoyo muy importante en el diagnóstico y control de tratamiento de los procesos atópicos. La determinación de las IgE específicas con métodos de RAST o CAP con reactivos de reconocida calidad con años de experiencias clínicas publicadas en muchos trabajos, hacen que el especialista del laboratorio clínico sea, como en otros muchos casos, el gran colaborador del clínico en el diagnóstico y control de tratamiento de sus pacientes.

0022. DERMATOMIOSITIS PROBABLE CON ANTICUERPOS ANTI MI-2

L. Contreras Navarro, R. Ramos Corral, J. Carretero Gómez, M. Ougnou, P.T. Daniel y M. Gómez Serranillos Reús

Hospital Virgen de la Salud. Toledo. España.

Introducción: Las miopatías inflamatorias idiopáticas (MII) son un grupo heterogéneo de enfermedades autoinmunes adquiridas del músculo estriado, en el que se incluye la dermatomiositis (DM) la polimiositis y la miositis por cuerpos de inclusión. La DM está considerada una enfermedad rara debido a su baja frecuencia. Para su diagnóstico clínico se realizan tres tipos de estudios complementarios: biopsia muscular, electromiograma y pruebas de laboratorio. Dentro de estas últimas se incluyen la cuantificación de enzimas que detecten el daño muscular y el proceso inflamatorio, y el estudio de los anticuerpos asociados para valorar el proceso autoinmune implicado en la enfermedad.

Objetivos: Establecer el papel que juega el laboratorio en la ayuda al correcto diagnóstico de las enfermedades autoinmunes, en este caso en el de la dermatomiositis.

Caso clínico: Varón de 86 años que acude a urgencias por presentar debilidad generalizada desde hace unos días y sensación de mareo desde esa misma mañana. Al revisar la historia clínica del paciente se observó que cuatro meses atrás presentaba un cuadro de prurito en cuero cabelludo y cara, con lesiones cutáneas eczematosas en región frontal, periorbitaria y región malar, que se trató con hidroxicina sin mejoría. A esta sintomatología se le añadieron lesiones similares en escote y regiones metacarpofalángica bilateral. Inicialmente fue diagnosticado de dermatitis eczematosa. Sin embargo al no observar mejoría con el tratamiento y, al empeorar con mareo y debilidad, este diagnóstico es descartado y se plantea la posibilidad de que se trate de una miopatía inflamatoria idiopática, más concretamente de una dermatomiositis, debido a la afec-

tación cutánea. Al realizar la bioquímica se observó una elevación de las transaminasas y de la creatinquinasa. Se solicita entonces un estudio más completo que incluya la determinación de anticuerpos antinucleares (ANAs), junto con una biopsia y un electromiograma. En la determinación de ANAs por inmunofluorescencia indirecta (IFI) se obtiene un patrón moteado con título 1/2560. Por Inmublot se determina la presencia de anticuerpos específicos de miositis/polimiositis y se obtiene un claro positivo para anticuerpos anti Mi-2. Los resultados obtenidos en la biopsia y el electromiograma son indicativos de miopatía inflamatoria. Con todo esto, el paciente fue diagnosticado de dermatomiositis probable.

Conclusiones: Aunque la biopsia muscular sigue siendo para muchos la prueba de referencia en el diagnóstico de las MII, la determinación de ANAs y de anticuerpos específicos ayuda a que éste sea más preciso y a realizar un mejor diagnóstico diferencial.

0023. BIOMARCADORES DE DAÑO OXIDATIVO Y SU UTILIDAD DIAGNÓSTICA EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE DE INICIO

E. Melguizo Madrid, K. Santos Rey, M.V. Navarro Compán, B. Hernández Cruz, C. Leyva, F. Navarro Sarabia y C. González Rodríguez

Hospital Universitario Virgen de la Macarena. Sevilla. España.

Introducción: El estrés oxidativo es un desequilibrio entre los mecanismos antioxidantes/oxidantes, medible por los biomarcadores que reflejan el daño de lípidos, proteínas o ADN. Algunos estudios establecen la asociación entre artritis reumatoide (AR) y estrés oxidativo, pero incluyendo pacientes con terapias antioxidantes y/o la enfermedad establecida. El objetivo es determinar si pacientes con AR de inicio, sin tratamiento previo, tienen más estrés oxidativo comparados con controles sanos, y evaluar así la utilidad para el diagnóstico de los mismos.

Material y métodos: Se ha desarrollado un estudio de casos y controles, con un total de 65 pacientes con diagnóstico reciente de AR (ACR, criterios 1987) sin tratamientos que modifiquen el desarrollo de la enfermedad (FAMES) o esteroides; y 65 controles sanos pareados en edad, sexo y hábito tabáquico con los pacientes. La población fue seleccionada por el Servicio de Reumatología de un Hospital Universitario de 3^{er} Nivel. La sangre total se obtuvo en tubos EDTA-K3, se centrifugó a 0 °C para obtener plasma fresco, añadiéndosele un cóctel antioxidante para detención de los procesos oxidativos y almacenadas a -80 °C hasta su análisis. Los peróxidos grasos se extrajeron con cloroformo antes de la determinación de los hidroperóxidos lipídicos (LOOHs), medidos por la oxidación química del ión ferroso y posterior reacción colorimétrica del ion férrico con tiocianato, y medición final de la absorbancia a 500 nm. La concentración de proteínas carboniladas (PC) se determinó basándonos en la reacción selectiva de estas con 2,4 dinitrofenilhidrazina, precipitación posterior en ácido tricloroacético y medición de absorbancia a 370 nm. El malondialdehído (MDA) se midió por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). El análisis estadístico se realizó mediante el software estadístico SPSS 15.0, con pruebas no paramétricas y se calcularon las curvas receptor operador (curvas ROC).

Resultados: Los grupos de pacientes y controles son similares en edad ($p = 0,67$) y sexo ($p = 0,97$) e índice de masa corporal ($p > 0,05$), encontrándose las diferencias esperadas en las variables asociadas a la AR (FR, anti-CCP). Los marcadores de daño oxidativo hidroperóxidos lipídicos (LOOH), proteína carbonilada (PC) y malondialdehído (MDA), así como la PCR mostraron diferencias estadísticamente (t-Student) (tabla). Cuando se construyeron las curvas ROC, la utilidad diagnóstica fue mejor para la PCO con un punto de corte de 36,6 mM, un área bajo la curva ROC de 0,7914, una sensibilidad del 95,38% y especificidad del 40,00% ($p < 0,001$); por su parte LOOHs, con un punto de corte de 17,6 mM, un área

bajo la curva ROC de 0,7579, sensibilidad del 87,69% y especificidad del 52,31% ($p < 0,001$) y MDA $\geq 5,3$ mM con un área bajo la curva ROC de 0,24, con una sensibilidad del 100% y una especificidad del 0% ($p < 0,001$).

Parámetros	Pacientes AR (n = 65)	Controles (n = 65)	p
Edad (años)	51,6 $\pm$ 12,4	50,5 $\pm$ 12,5	> 0,05
Peso (Kg)	76,4 $\pm$ 12,4	72,0 $\pm$ 12,6	> 0,05
Altura (m)	1,7 $\pm$ 0,1	1,7 $\pm$ 0,1	> 0,05
Índice de masa corporal (Kg/m ²)	28,2 $\pm$ 6,5	26,4 $\pm$ 4,7	> 0,05
Sexo (mujeres) %	79	79	> 0,05
Anti-CCP (positivo %)	51	0	< 0,001
FR (positivo %)	64	7	< 0,001
Epitopo compartido (positivo %)	52	31	< 0,05
Heterocigoto (%)	100	100	
Homocigoto (%)	0	0	
PCR (mg/L)	22,9 $\pm$ 45,5	3,1 $\pm$ 4,7	< 0,001
MDA (mM)	8,07 $\pm$ 1,94	9,33 $\pm$ 1,28	0,003
LOOH (mM)	37,43 $\pm$ 14,43	21,95 $\pm$ 19,65	0,008
PC (mM)	112,40 $\pm$ 60,55	55,30 $\pm$ 42,82	< 0,001

Conclusiones: Los pacientes con AR de inicio sin tratamiento previo han demostrado tener los marcadores de daño oxidativo de lípidos y proteínas más elevados en comparación con los controles sanos. La PC puede ser un biomarcador del daño oxidativo en la enfermedad.

0024. ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE EN PACIENTE CON SÍNDROME AUTOINMUNE MÚLTIPLE

M.J. Domínguez Lomeña, M.A. de las Nieves López, J.M. Liébana Cabanillas, E. Gil Ginés, M.J. Requena Pou, J. Martín-Vivaldi Jiménez, C. Rodríguez Escalera, A. Alemany Esteban y V.M. Sánchez Bueno

Hospital Comarcal de Melilla. España.

Introducción: Los desórdenes autoinmunes se caracterizan por la producción de anticuerpos o células efectoras que reaccionan contra los propios tejidos de uno o varios órganos. Pueden ser consecuencia de un trastorno de la tolerancia inmunológica o de la pérdida de la capacidad inmunoreguladora de los linfocitos T. También se observan en casos de activación policlonal de linfocitos B que sintetizan inmunoglobulinas con actividad de autoanticuerpos y en situaciones de inducción a la autoinmunización por mimetismo antigénico. Algunos trastornos autoinmunes pueden coexistir en un mismo individuo, así, la tiroiditis autoinmune se asocia a un riesgo incrementado de enfermedad celíaca y lupus eritematoso sistémico. La anemia perniciosa es el tipo de anemia más frecuente, siendo más rara la asociación con la anemia hemolítica autoinmune. Describimos la coexistencia en un mismo paciente de anemia hemolítica autoinmune y síndrome autoinmune múltiple.

Caso clínico: Varón de 33 años diagnosticado de tiroiditis autoinmune y anemia ferropénica en diciembre del 2010 (Hb 10,5 g/dl, VCM 76,4 fl; ferritina 11 ng/ml, TSH: 5,98, T₄ libre: 0,85. Acs. anti-tiroglobulina: > 500. Acs. anti-tiroideos microsomaes: > 1.300. ANA: 1/40 con patrón moteado). Desde comienzos de año, presenta episodios de tumefacción e inflamación poliarticular de predominio en carpos, rodillas y tobillos. El 13 de marzo de 2011 acude a Urgencias por cuadro febril y síndrome asténico de dos semanas de evolución. La exploración revela palidez cutáneo-mucosa, con tinte icterico y esplenomegalia palpable. En el hemograma destaca: Hb 4,0 g/dl. VCM 88,1 fl. Plaquetas 541.000. Leucocitos 18.100

(N14.820, L2.340, M640). Reticulocitos: 15%. Se decide su ingreso para estabilización y estudio. **Datos del laboratorio:** Frotis: anisopoikilocitosis marcada con presencia de eritroblastos (2/100 células blancas). Leucocitosis neutrofílica con presencia de cayados. Trombocitosis. Test de Coombs directo: poliespecífico: positivo (4+). Monoespecífico: IgG-complemento (C3c/C3d). F. Reumatoide: negativo. Ac. anti-CCP: negativo. HLA B27: negativo. HLA DQ2: positivo. Complemento C4: 18,1. Ac. anti-cardiolipina IgG: positivo. Acs. anti-transglutaminasa IgA y acs. anti-gliadina IgA: positivos. Otras exploraciones complementarias: Ecografía tiroidea: ecoestructura heterogénea pseudonodular con moderado aumento de la vascularización difusa, compatible con tiroiditis. TAC de Abdomen: bazo de morfología normal discretamente aumentado de tamaño. Endoscopia digestiva e informe anatomopatológico: atrofia vellositaria parcial en fragmentos de mucosa duodenal. **Diagnóstico:** anemia mixta (anemia hemolítica autoinmune por anticuerpos calientes IgG con actividad fijadora del complemento y anemia ferropénica) y leucotrombocitosis reactiva. Tiroiditis autoinmune. Enfermedad celiaca. Posible conectivopatía tipo lupus eritematoso sistémico. **Evolución:** recibe tratamiento con esteroides (prednisona a dosis inicial de 2 mg/Kg/día con pauta descendente posterior) y aporte con sulfato de hierro, con mejoría analítica lentamente progresiva, alcanzando Hb 10 g/dl en el último control analítico. Mejoría de la clínica articular coincidiendo con la supresión del gluten en la dieta.

Conclusiones: El diagnóstico de una enfermedad autoinmune debe obligar al despistaje de otros posibles procesos asociados, como en el caso de las tiroiditis autoinmunes que con elevada frecuencia se asocian a enfermedad celiaca. En nuestro caso el hallazgo de anemia ferropénica apoyaba el posible diagnóstico de enfermedad celiaca.

0025. DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI DSDNA: ELISA VS INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA

M. Palacios Gasós^a, M. Arruebo Muñoz^b, M. Inda Landaluce^b, A.I. Lorenz Abad^b y M.J. Ramos Sancho^b

^aHospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid. España. ^bHospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza. España.

Introducción: El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune crónica caracterizada por exacerbaciones y remisiones y con afectación clínica de varios órganos (piel, riñones, sistema cardiovascular y nervioso). En 1957 fueron descubiertos los anticuerpos contra el DNA de doble cadena (ac. anti-dsDNA), cuya presencia en el suero de los pacientes constituye uno de los criterios diagnósticos para LES según la Asociación Americana de Reumatología. Estos anticuerpos anti-dsDNA se encuentran en el 50-80% de pacientes (especialmente los que presentan nefritis), por lo que son considerados marcadores específicos de LES, y la medida de sus niveles en el suero de los pacientes se usa para el seguimiento de la enfermedad. Estos anticuerpos constituyen un grupo heterogéneo en cuanto a su avidéz, clase de Inmunoglobulina, capacidad de fijación al complemento... Pero son los Ac anti-dsDNA de alta avidéz los considerados específicos para el LES, y relacionados además con la aparición de nefritis en el curso de la enfermedad. Se utilizan distintas técnicas para su determinación y cuantificación, siendo las más utilizadas actualmente la inmunofluorescencia indirecta (IFI) con *Crithidia Luciliae*; y el Enzyme-Linked Immunosorbent Assays (ELISA).

Objetivos: Comparar el método de determinación de anticuerpos anti dsDNA-IgG ELISA (método automático y cuantitativo) frente al método de IFI (método manual y semicuantitativo).

Material y métodos: Se realiza la determinación de anticuerpos anti-dsDNA de 235 pacientes con ANA patrón homogéneo y/o nucleolar positivo mediante ambos métodos: ELISA (CHORUS dsDNA-G) e IFI (*Crithidium lucillae* Inmunofluorescence Assay). Por el

método ELISA se consideraron resultados negativos valores < 12 UI/mL, dudosos entre 12-18 UI/mL y resultados positivos > 18 UI/mL. Por el método IFI serán positivas todas las diluciones iguales o mayores de 1/10 (pacientes que serán considerados en este estudio como enfermos). Para los cálculos se utilizaron las siguientes fórmulas: sensibilidad (S) = VP/(VP+FN) y especificidad (E) = VN/(VN+FP); siendo VP: verdaderos positivos; VN: verdaderos negativos; FP: falsos positivos; y FN: falsos negativos.

Resultados: De los 235 pacientes, se detectaron mediante IFI un total de 37 enfermos y 298 sanos, mientras que por ELISA se obtuvieron 142 sanos, 19 dudosos y 74 enfermos. Comparando este método frente a IFI (método validado de nuestro laboratorio), se obtuvieron un total de 7 FN y 43FP. Utilizando las fórmulas de sensibilidad y especificidad se obtuvo una S = 81% y una E = 78%. No se encontró correlación entre los resultados obtenidos por ambas técnicas.

Conclusiones: Aunque podríamos considerar el ELISA como suficientemente sensible (81%) (número bajo de FN) para su utilización en el laboratorio, el elevado número de FP encontrado hace que disminuya la especificidad hasta un 78%. Esto es debido a que los ELISAS, en general, son menos específicos ya que detectan Ac de alta/baja avidéz, frente al IFI que detecta ac. de media/alta avidéz, considerándose estos últimos más específicos del LES activo. No se recomienda, por tanto, la sustitución del método utilizado actualmente (IFI) por ELISA, ya que implicaría una pérdida de especificidad, pero si se podría sugerir la combinación de ambos métodos, confirmando por IFI los casos positivos por ELISA.

0026. VALOR DIAGNÓSTICO DE LOS ANTI-CCP Y EL EPITOPO COMPARTIDO HLA-DRB1 EN PACIENTES ANDALUCES CON SOSPECHA DE ARTRITIS REUMATOIDE

J.L. García de Veas Silva, C. González Rodríguez, B. Hernández Cruz y F. Navarro Sarabia

Hospital Virgen Macarena. Sevilla. España.

Introducción: La artritis reumatoide es una enfermedad autoinmune sistémica inflamatoria de origen desconocido y caracterizada por una poliartritis crónica. Los anticuerpos contra los péptidos cíclicos citrulinados (anti-CCP) tienen valor diagnóstico en artritis reumatoide pero el papel del epitopo compartido no está bien definido.

Objetivos: Evaluar el valor diagnóstico de los anti-CCP y el epitopo compartido en pacientes de la comunidad autónoma andaluza que presentan síntomas de artritis reumatoide en su primera visita a la consulta de Artritis Precoz del Servicio de Reumatología.

Material y métodos: Se seleccionaron todos los pacientes consecutivos que acudieron a la consulta de artritis precoz y a los que se les determinó los anti-CCP, epitopo compartido y factor reumatoide. Posteriormente se continuó el seguimiento de los pacientes hasta completar 12 meses. El diagnóstico de las enfermedades reumáticas se estableció según los criterios vigentes de la ACR (The American College of Rheumatology). Los anti-CCP fueron determinados con el kit ELISA (Enzyme-linked immunosorbent Assay) QUANTA Lite™ que detecta IgG anti-CCP3 (Cyclic Citrullinated Peptide 3) en el suero de los pacientes (punto de corte de 40 UI/ml). El SE fue determinado con el kit GenID Reverse Hybridization para la detección de los alelos HLA-DRB1 en el plasma del paciente. El factor reumatoide IgM fue determinado con el ensayo inmunoturbidimétrico de BAYER® para el autoanalizador ADVIA 2400 (punto de corte de 20 UI/ml). En este estudio de test diagnósticos determinamos el valor diagnóstico (sensibilidad, especificidad y likelihood ratios) para los anti-CCP, epitopo compartido y factor reumatoide; y el área bajo la curva (AUC) para los anti-CCP y el factor reumatoide. Los análisis estadísticos fueron realizados con el software IBM SPSS Statistics 19 for Windows.

Resultados: De los 211 pacientes con sospecha de artritis reumatoide, 106 cumplieron los criterios de clasificación de artritis reumatoide de la ACR 1987 y fueron diagnosticados de artritis reumatoide mientras que los 105 restantes fueron diagnosticados de otras enfermedades reumáticas. El valor diagnóstico de los anti-CCP, epitopo compartido HLA-DRB1 y factor reumatoide se muestran en la tabla.

Valor diagnóstico de anti-CCP, SE HLA-DRB1 y RF

	Anti-CCP	SE HLA-DRB1	RF
Sensibilidad (%)	66,0	72,6	81,1
Especificidad (%)	96,2	38,1	76,2
Área bajo curva	0,875	-	0,864
Positive Likelihood ratio	17,37	1,06	3,41
Negative Likelihood ratio	0,35	0,72	0,25

Conclusiones: Los anti-CCP presentan un elevado valor diagnóstico en la sospecha de artritis reumatoide en los pacientes de la comunidad autónoma andaluza cuando acuden por primera vez al reumatólogo. Sin embargo esto no ocurre con el epitopo compartido en nuestra población. La determinación de los anti-CCP es un test más específico que la determinación del factor reumatoide y por lo tanto son muy útiles como prueba confirmatoria en una consulta especializada de artritis precoz.

0027. EVALUACIÓN DEL MÉTODO DOT BLOT PARA EL DIAGNÓSTICO DE HEPATITIS AUTOINMUNE

I. Gámez Gómez, C. Porrino Herrera, C. González Oller, A.M. Jiménez Gila, D. Sosa Moncayo, J.G. Martínez Fernández y C. Avivar Oyonarte

Hospital de Poniente. El Ejido. Almería. España.

Introducción: La hepatitis autoinmune (HAI) es una hepatopatía inflamatoria crónica y progresiva, de etiología desconocida, cuya patogenia se atribuye a una reacción inmune frente a autoantígenos hepatocelulares. Las características principales que definen a la HAI son títulos altos ($> 1:40$) de autoanticuerpos e hipergammaglobulinemia policlonal, sobre todo elevación de IgG. La detección de estos autoanticuerpos se ha realizado clásicamente mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI), pero gracias al avance tecnológico, se han desarrollado nuevos métodos de diagnóstico.

Objetivos: Evaluar la eficacia del método dot blot para la detección de anticuerpos antimitocondriales (AMA) mediante la comparación con el método de referencia IFI.

Material y métodos: Se realiza la detección de anticuerpos específicos de hepatitis autoinmune en 80 pacientes durante el periodo de junio-diciembre de 2010 con sospecha de dicha enfermedad por dos técnicas distintas. El método de dot blot (AlphaDia Liver Dot Kit) es un ensayo inmunoenzimático en soporte sólido (tira de plástico), que detecta anticuerpos frente a los antígenos M2, F-actina, LKM1, LC1, SLA. Todas las muestras citadas se estudian también por el método de inmunofluorescencia indirecta con triple tejido de rata (hígado, riñón y estómago), por visualización al microscopio de fluorescencia (kit comercializado por Menarini diagnostics).

Resultados: La concordancia entre los resultados obtenidos por el método de dot blot e IFI para la detección de anticuerpos antimitocondriales es de un 96%. Se observan 3 resultados discordantes, comparando ambas técnicas, de los 80 sueros estudiados: 2 resultados dot blot positivo/inmunofluorescencia negativo y 1 resultado dot blot negativo/inmunofluorescencia positivo.

Conclusiones: 1. Los resultados obtenidos por ambas técnicas nos permite concluir que la eficacia diagnóstica del método de dot blot es muy similar al método de referencia IFI, para el estudio de hepatitis de origen autoinmune. 2. La detección de anticuerpos

mediante el método de dot blot presenta como ventaja que es una técnica automatizada y objetiva mientras que la IFI es una técnica más laboriosa y subjetiva ya que depende del observador.

0028. CONCORDANCIA ENTRE LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-CCP MEDIANTE QUIMIOLUMINISCENCIA FRENTE A ENZIMOINMUNOANÁLISIS

L. Abellán Tejada, M.P. Villanueva Gil, G. Llop Furquet, A. Cuesta Pereda, P. Laporta Martín y A. Carratalá Calvo

Hospital Clínico de Valencia. España.

Introducción: El diagnóstico precoz de la artritis reumatoide presenta una gran importancia clínica debido a que la aplicación de la terapia en estadios iniciales puede prevenir la aparición de secuelas importantes. Los anticuerpos anti-CCP parecen ser un marcador altamente específico de artritis reumatoide y, por tanto, muy útil tanto en el diagnóstico diferencial como en el pronóstico de esta patología. Realizábamos la determinación de anti-CCP por ELISA lo que suponía acumular las muestras para procesarlas un día a la semana. Este método presentaba una buena calidad analítica demostrada por el Sistema de Garantía de la Calidad del Laboratorio consistente tanto en controles internos como externos. Nuestra intención era encontrar una nueva técnica más rápida para poder informar los resultados diariamente.

Objetivos: El objetivo de este estudio es comprobar el grado de concordancia entre un nuevo método para la determinación de anticuerpos anti-CCP por quimioluminiscencia (CLIA) frente al ensayo inmunoenzimático (ELISA) de rutina establecido en el laboratorio. Si se demuestra que la concordancia es buena, sustituir el ELISA por CLIA para acortar el tiempo de demora en la entrega de los resultados.

Material y métodos: Se determinó la existencia de anti-CCP en paralelo mediante un ensayo inmunoenzimático (CLIA) en el instrumento Zenit Ra Analyser (Menarini) y mediante ensayo inmunoenzimático ELISA en el analizador Zenit (Menarini). Las muestras fueron de suero conservadas en nevera (4°C) no más de 5 días. Los dos análisis fueron cualitativos, es decir, los resultados se clasificaron como negativos o positivos. Se analizó el grado de concordancia entre las dos técnicas utilizando para ello el estadístico Kappa: Se considera Kappa = 1, máximo grado de concordancia mientras que Kappa = 0 correspondería a una concordancia debida meramente al azar.

Resultados: Fueron analizadas un total de 75 muestras de suero. 27 (36%) resultaron ser positivos para anticuerpos anti-CCP y 48 (64%) negativos por ambos métodos. En nuestra serie. No hubo ninguna discrepancia. Así, resultó que el estadístico kappa fue de 1, es decir, presentaron tener el máximo grado de concordancia.

Conclusiones: Dado que el grado de concordancia entre los dos métodos es máximo ($k = 1$), podemos sustituir el ELISA por CLIA. De esta manera, garantizamos la calidad analítica conseguida con el antiguo método y acortamos el tiempo de demora en la entrega de resultados.

0029. COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS DE MEDIDA POR ENZIMOINMUNOENSAYO E INMUNOENSAYO POR QUIMIOLUMINISCENCIA PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS EN EL LABORATORIO DE AUTOINMUNIDAD

E. Melguizo Madrid, Á. Fernández Hermida, I. Romero Losquiño, D. Barbero Roldán, R. Fuerte Seda, C. González Rodríguez

Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla. España.

Introducción: En el diagnóstico por el laboratorio de las enfermedades autoinmunes sistémicas, los anticuerpos frente a DNA de doble cadena (anti-dsDNA) y los denominados anticuerpos ENAS

(anticuerpos contra antígenos extraíbles del núcleo) forman parte de los criterios de clasificación de estas enfermedades. Por su parte para el diagnóstico de la artritis reumatoide, la prueba de laboratorio que ha demostrado tener una mayor relevancia clínica es la determinación del anticuerpo anti-péptido cíclico citrulinado (anti-CCP).

Objetivos: Analizar el grado de acuerdo entre un método de quimioluminiscencia (Zenit RA, Menarini Diagnostics, Italia) y el método habitual de ELISA del laboratorio (INOVA Diagnostics, EEUU) para el análisis de anti-CCP, anti-dsDNA y cribado de ENAs (que incluye anti-SSA/Ro, anti-SSB-La, anti-Sm, anti-U1RNP, anti-Scl70 y anti Jo1).

Material y métodos: Se estudiaron muestras provenientes del servicio de reumatología de un hospital de tercer nivel. La automatización de las técnicas se realizó en los autoanalizadores Zenit-SP+ y Zenit-RA de Menarini Diagnostics, Italia. Se estudió el grado de acuerdo y asociación de resultados mediante el programa estadístico SPSSv19.

Resultados: Para estudiar los resultados se determinaron variables cualitativas, positivo-negativo-dudoso, tomando los siguientes puntos de corte según recomendaciones del fabricante (tabla 1).

El análisis comparativo se realizó mediante el cálculo de tablas de contingencia (tablas 2, 3 y 4.) y mostró un elevado grado de acuerdo entre los métodos, expresado como el índice Kappa.

Conclusiones: Los dos métodos estudiados muestran muy buena concordancia y son transferibles. Dadas las ventajas de la técnica CLIA frente a ELISA (curva maestra para cada lote de calibradores y controles, linealidad y acceso continuo de muestras) es una opción válida para el análisis de anti-dsDNA, cribado de ENAs y anti-CCP en el laboratorio clínico.

0030. EVALUACIÓN DE UN NUEVO TEST COMBINADO DE ANTI-TRANSGLUTAMINASA TISULAR IGA PARA EL CRIBADO DE ENFERMEDAD CELÍACA

R.I. Chancayauri Canales, Z. Corte Arboleya, M. Oliveira Rodríguez, R. Venta Obaya y B. Gutiérrez Cecchini

Hospital San Agustín. Avilés. España.

Introducción y objetivos: Los anticuerpos anti-transglutaminasa tisular (AATGt) IgA e IgG son marcadores altamente sensibles

Tabla 1. Valores de corte para categorización de resultados

	Anti-CCP	ENAs	dsDNA
ELISA	< 20 U/mL -negativa 20 - 40 U/mL - dudoso > 40 U/mL - positiva	< 20 U/mL - negativa 20 - 30 U/mL - dudoso > 30 U/mL - positiva	< 100 UI/mL - negativa 100-130 UI/mL - dudoso > 130 UI/mL - positiva
CLIA	< 5 U/mL - negativa > 5 U/mL - positiva.	< 1 - negativa > 1 - positiva	< 30 UI/mL - negativa 30 - 50 UI /mL dudosa > 50 UI /mL positiva
Muestras estudiadas	113 muestras	100 muestras	94 muestras

Tabla 2. Tabla de contingencia para CCP

Anti-CCP		ELISA		
		Negativo	Positivo	Total
CLIA	Negativo	89	2	91
	Positivo	1	21	22
	Total	90	23	113

Índice k: 0,917.

Tabla 3. Tabla de contingencia para ENAs

ENAs		ELISA			
		Negativo	Positivo	Dudoso	Total
CLIA	Negativo	51	2	5	58
	Positivo	1	39	1	41
	Dudoso	1	0	0	1
	Total	53	41	6	100

Índice k: 0,856.

Tabla 4. Tabla de contingencia para dsDNA

dsDNA		ELISA			
		Negativo	Positivo	Dudoso	Total
CLIA	Negativo	65	0	2	67
	Positivo	6	16	1	23
	Dudoso	3	0	1	4
	Total	74	16	4	94

Índice k: 0,808.

y específicos para el cribado de la enfermedad celíaca (EC). Los valores del los AATGt son de gran utilidad como indicadores de EC, sin embargo la biopsia intestinal sigue siendo el patrón de oro para establecer el diagnóstico definitivo. En los últimos años se han recomendado otros marcadores adicionales como anti-gliadina deaminada IgA e IgG con el fin de aumentar la sensibilidad diagnóstica (Se). Actualmente, Bio-Rad ha lanzado al mercado un Kit que consiste en un neoantígeno AATGt que incorpora la gliadina deaminada. El objetivo de este estudio ha sido establecer un nuevo punto de corte para este ensayo que nos permita disminuir el porcentaje de falsos positivos, manteniendo un adecuado rendimiento diagnóstico y comparar los resultados obtenidos con un método de amplia utilización.

Material y métodos: Durante un período de 6 meses se estudiaron un total de 125 muestras que fueron procesadas en paralelo mediante dos técnicas de EIA, el tTG IgA test (Evolis, Bio-Rad) (punto de corte 15 U/mL) y el método de referencia para nuestro hospital, el ATGA de InmunoCAP250 (Phadia) (punto de corte 7 U/mL). Con el fin de clasificar los sujetos en función de la presencia de EC, confirmado por la biopsia, se realizó una revisión de las historias clínicas. El estudio estadístico de los datos se realizó con el programa analyse-it 2.1 para Excel. El punto de corte óptimo para el diagnóstico de EC se estableció a través de una curva ROC. La comparación de datos por ambas técnicas EIA se realizó mediante el análisis de regresión lineal no paramétrico de Passing-Bablok.

Resultados y conclusiones: El área bajo la curva ROC para el tTG IgA test Evolis fue 0,93 (IC95%: 0,88-0,98), obteniéndose un punto de corte óptimo de 40 U/mL, con una Se del 90,9% (IC95%: 70,8-98,9) y una especificidad del 82% (IC95%: 73,1-89). Aunque, el punto de corte obtenido es superior al recomendado por el fabricante, se mantiene una alta sensibilidad disminuyendo los falsos positivos y, por tanto, la realización de pruebas invasivas innecesarias. El análisis de Passing-Bablok muestra que existe una pobre correlación lineal ($r = 0,67$) entre ambas técnicas debido probablemente a la falta de un estándar internacional para la determinación de los AATGt y también al uso de diferentes antígenos, por lo que se justificaría el empleo de nuestro propio punto de corte.

0031. ¿CÓMO SE COMPORTAN LOS PACIENTES CELÍACOS CON DÉFICIT AISLADO DE IGA?

L. Altimira I Queral, T. Marquès I Valls, M. Molero I Luis, M. Tondo I Colomer, M. Hernández I García y C. Farré i Masip

Hospital Sant Joan de Deu. Esplugues de Llobregat. Barcelona. España.

Introducción: El déficit aislado de IgA (DAIgA) afecta al 0.2% de la población general y al 2% de la población con enfermedad celíaca (EC). El DAIgA cursa con IgG elevada e IgM normal y suele pasar clínicamente inadvertido. El DAIgA puede ser total, parcial o transitorio. En nuestro laboratorio se determinan sistemáticamente los anticuerpos antitransglutaminasa de clase IgG (AcTG-IgG), anteriormente antiendomiso IgG, a todos los pacientes con DAIgA mayores de un año que siguen una dieta con gluten. Con esta estrategia añadida a la solicitud habitual, se diagnostica la EC en un 5.5% de los pacientes con DAIgA mediante la realización de biopsia intestinal.

Objetivos: Describir cómo se comportan los pacientes con EC asociada a un DAIgA total o parcial de nuestra serie (1990-2011).

Material y métodos: En nuestra base de datos (Microsoft Office Access 2003) que contiene la información serológica, histológica, genética, clínica y familiar de 2039 pacientes registrados por sus marcadores serológicos de EC positivos, seleccionamos los casos con EC y DAIgA, de los que registramos: 1. Si el DAIgA es total, parcial o transitorio. 2. Los AcTG-IgG en pacientes EC con DAIgA total y su evolución con la DSG. 3. Los AcTG-IgA/IgG en pacientes EC y DAIgA parcial y su evolución con la DSG.

Resultados: 1. Se contabilizan 40 pacientes celíacos con DAIgA. En 28 (28/40) el DAIgA es total ([IgA] < 10 mg/dL). Los 12 (12/40) restantes muestran una [IgA] disminuida según los valores de referencia por edad. En 4 de ellos (4/12) la [IgA] es debida a la [AcTG-IgA] y con la DSG, desaparecen los anticuerpos y se manifiesta el DAIgA. Dos casos (2/12) se clasifican de DAIgA transitorio, dado que la [IgA] normaliza a los 7 años de edad. Los 6 restantes (6/12) se consideran DAIgA parcial. 2. Los 28 casos con DAIgA total presentan AcTG (o antiendomiso) exclusivamente de clase IgG en el diagnóstico. Los AcTG-IgG se mantienen detectables tras 2-11 años de DSG en 15 de los 20 casos valorados, desapareciendo en los 5 restantes. 3. Los 12 casos con DAIgA parcial presentan AcTG-IgG en todos los casos y AcTG-IgA en 7 de los 9 casos valorados. Los AcTG-IgG siguen detectables tras 1-4 años de DSG en 5 de los 8 casos valorados, desapareciendo en los 3 restantes. Los AcTG-IgA desaparecen en todos los casos tras 1-4 años de DSG.

Conclusiones: Los pacientes celíacos con DAIgA total solo se pueden detectar serológicamente a través de los AcTG de clase IgG, en cambio, los pacientes celíacos con DAIgA parcial o transitorio se pueden presentar con AcTG de clase IgG y/o AcTG de clase IgA. Consideramos relevante destacar que los AcTG de clase IgG permanecen detectables tras años de DSG en la mayoría de los pacientes celíacos con DAIgA total o parcial, a pesar de tener una adecuada respuesta clínica y/o histológica a la DSG.

0032. ASCA'S Y OMP PLUS EN EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE CROHN

C. Armendáriz Brugos, A. García Calvo, L. Labayen Legorburu, A.M. Velasco Marchena, M. Romero Glaría, M. Palacios Sarraqueta, E. Fernández Vizán, N. Cacho Ochoa, M.T. Esarte San Martín y R.M. Cenoz Pérez

Complejo Hospitalario de Navarra A. Pamplona. España.

Introducción: Las enfermedades inflamatorias crónicas intestinales (EII) son un grupo de trastornos intestinales de origen desconocido, que causan ulceraciones e inflamación de diversas áreas del intestino. La enfermedad de Crohn (EC) y la colitis ulcerosa (CU) son las dos formas más importantes de EII. Se cree que son debidas a una alteración de la respuesta inmune. En la enfermedad de Crohn (EC) se pueden detectar anticuerpos anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA). Estos se utilizan actualmente en el diagnóstico diferencial de la EC respecto de otras EII (CU, colitis indeterminadas). En algunos pacientes con EC se ha observado que presentan anticuerpos dirigidos contra antígenos derivados de diferentes bacterias, como los que dianizan la proteína C de membrana externa (OMP C) de *E. coli*. Los ASCA son los marcadores serológicos más exactos para la EC. No obstante, presentan baja sensibilidad.

Objetivos: Valorar la sensibilidad y especificidad del OMPplus, y de su asociación con ASCA, en la EC.

Material y métodos: Se recogieron 45 sueros de pacientes (22 hombres (edad X = 44 (23-77 años) y 23 mujeres (edad X = 43 (19-64 años)) con petición de ASCA recibidos en nuestro servicio. Se analizaron mediante ELISA con los kits ELISA QUANTA Lite™ OMP Plus y ELISA QUANTA Lite™ ASCA IgG y ASCA IgA en un analizador Alegria. El análisis estadístico se realiza mediante el programa EpiTable.

Resultados: De los 45 pacientes, 24 (53,3%) presentan EC, mientras que 11 (24,4%) de ellos padecen CU. El resto de sueros (10 (22,2%)) corresponden a diversas patologías gastrointestinales o pacientes sanos. De los pacientes con EC, el 29,2% tienen OMPplus positivo, mientras que en el resto de pacientes (CU, otras EII o pacientes sanos), aparece OMPplus positivo en el 37,5% de ellos. Respecto a los ASCA, estos anticuerpos son positivos en el 54,2% de los pacientes con EC y solamente en un paciente (4,2%) con otra patología (inflamación medicamentosa). La sensibilidad (S) y especificidad (E) de OMPplus y ASCA por separado es: OMPplus: S = 30,4%, E = 59,1%; ASCA: S = 54,2%, E = 95,2%. Asociando ambos parámetros,

los dos son positivos en 8 (33,3%) de los pacientes con EC, mientras que no aparecen resultados positivos de ambos simultáneamente en ningún otro paciente. La sensibilidad y especificidad de ambos parámetros asociados es: $S = 42,1\%$; $E = 100\%$.

Conclusiones: Los resultados de este estudio no son concluyentes debido al escaso tamaño de la población. No obstante, se observa que la combinación de ASCA y OMPplus no aporta mejoras en el diagnóstico de EC. Debido a su baja sensibilidad, estas pruebas presentan una limitada utilidad como método de screening en población de riesgo de padecer EI. Los métodos habituales de detección (histología, endoscopia, etc.) son más sensibles. En la actualidad, la determinación de ASCA es útil en el diagnóstico diferencial de EC frente a CU, fundamentalmente. El OMPplus y su asociación con ASCA no aportan mejora significativa en este diagnóstico diferencial.

0033. INMUNOBLOTTING ÚLTIMO PASO EN EL PROTOCOLO DE DETECCIÓN DE ANA

F.A. García Caballero, F.J. Muñoz Vico, E. García Moreno, M. Grau Gálvez y A.M. Blázquez Cubero

Complejo Hospitalario Torrecárdenas. Almería. España.

Introducción: Los anticuerpos antinucleares (ANA) son el marcador serológico de las enfermedades autoinmunes, y deben solicitarse siempre que exista la sospecha diagnóstica. Se detectan en las enfermedades sistémicas del tejido conectivo, en trastornos autoinmunes órgano-específicos (tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Graves, hepatitis autoinmune, colangitis primaria autoinmune o hipertensión pulmonar primaria), en infecciones crónicas (mononucleosis, endocarditis bacteriana subaguda, malaria y tuberculosis), y algunos trastornos linfoproliferativos. Muchos medicamentos incrementan la incidencia de ANA, en particular la procainamida, la hidralazina, la isoniazida, la clorpromacina y los beta-bloqueantes. La sensibilidad de la prueba varía según la técnica usada y la titulación del anticuerpo. En la actualidad se prefiere la inmunofluorescencia indirecta (IFI) usando como sustrato cultivos celulares procedentes de tumores epiteliales humanos (HEp-2). Si la técnica resulta positiva se aplica el inmunoblotting, ELISA o la inmunodifusión, para la identificación de los antígenos específicos (anti-ENAs).

Objetivos: Tratamos de ver la concordancia entre las diferentes técnicas empleadas para la determinación de ANA y lo que cada una aporta a la detección final y por ello, la ponderación que tiene, para la elaboración del informe del paciente.

Material y métodos: Ensayamos 23 muestras a las cuales se le aplica el protocolo de detección de ANA (Screening ANA, si positivo se realiza IFI y DNA, si IFI positivo ENAs por ELISA y como último paso inmunoblotting en caso de incongruencias entre las anteriores técnicas o búsqueda de anticuerpos específicos. Los reactivos utilizados son para ANA Diastat™ Eurodiagnostica, para ENAs Immunoconcepts Diagnostic (RNP, Sm, SSA, SSB, Scl70, Jo1), DNA Phadia Diagnostic, Inmunoblotting recomLine ANA/ENA IgG Mikrogen Diagnostik (RNP68, RNPA, RNPC, SmB, SmD, SSA60, SSA52, SSB, Rib-P, PCNA, CENP-B, Scl70, Jo-1, Histona, DNA ds). El equipo utilizado para las técnicas de ELISA fue Zenit SP+ Menarini Diag., para DNA Immunocap P250 Phadia GmbH y para blotting AP16 IFBLOT Menarini Diag.

Resultados: De las 23 muestras ensayadas que fueron ANA screening positivas se obtuvieron los siguientes resultados: se detectaron 21 especificidades clásicas (RNP, Sm, SSA, SSB, Scl70, Jo1) por ELISA y 24 por inmunoblotting. Hemos encontrado un total de 13 discrepancias sobre un total de 26 combinaciones (50%). Por otra parte, el inmunoblotting ha aportado un total de 10 resultados adicionales (CENPB, PCNA, SSA52 e Histonas), y discrimina entre los distintos componentes de RNP (A,C y RNP68) y Sm (B y D).

Conclusiones: Hemos detectado un elevado número de discrepancias entre las dos técnicas comparadas (ELISA e Inmunoblotting).

Dadas las características técnicas del inmunoblotting, y el mayor número de especificidades obtenidas, es recomendable su aplicación para resolver incongruencias analíticas y para ampliar el panel de autoanticuerpos menos frecuentes.

0034. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA SÍNTESIS INTRATECAL DE INMUNOGLOBULINAS G Y SU RELACIÓN CON LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE

M. Santamaría González, M. Inda Landaluce, M. Arévalo Durán, M. Arruebo Muño y M.Á. Julián Ansón

Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza. España.

Introducción: El líquido cefalorraquídeo (LCR) refleja las alteraciones patológicas en las enfermedades inflamatorias del SNC, y su estudio ha permitido demostrar el origen autoinmune de la esclerosis múltiple (EM). El diagnóstico de esta enfermedad se basa principalmente en la clínica, siendo necesario tanto para el diagnóstico temprano como para la confirmación de sospecha de la enfermedad y la exclusión de otras patologías, el uso de exámenes complementarios como la resonancia magnética, los potenciales evocados y el análisis del líquido cefalorraquídeo y suero. El estudio proteico del LCR constituye una fuente importante de información en distintos cuadros neurológicos. De las diferentes técnicas disponibles, las más específicas son aquellas que detectan una respuesta inmune humoral restringida al sistema nervioso central; ya que más de un 90% de los pacientes con EM tiene un incremento de la síntesis intratecal de IgG, pudiendo demostrarse tanta cuantitativa (índice IgG) como cualitativamente (presencia de bandas oligoclonales (BOC)) en LCR.

Objetivos: Evaluar el porcentaje de pacientes que presentan un índice IgG elevado y bandas oligoclonales en LCR. Asimismo comprobar la relación de estas con la EM.

Material y métodos: Se analizaron paralelamente muestras sanguíneas y de LCR de un total de 614 pacientes, fundamentalmente solicitadas por el servicio de Neurología. Con la finalidad de detectar síntesis intratecal de IgG se calculó el índice de Link o índice de IgG mediante la fórmula matemática $(\text{IgG LCR} \times \text{albúmina suero}) / (\text{IgG suero} \times \text{albúmina LCR})$. Un valor superior a 0,7 implica incremento de la síntesis intratecal de IgG. Para el análisis cualitativo recurrimos al isoelectroenfoco seguido de inmunoblotting (método "gold standard"), se considera que hay síntesis intratecal cuando se observan bandas en LCR y estas no están presentes en suero, o cuando aparecen bandas adicionales en el LCR a las encontradas en suero.

Resultados: Del total de muestras analizadas, 127 (20,68%) presentan un índice IgG elevado y en 163 (26,55%) se observan bandas oligoclonales. Resultaron positivas entre los dos métodos un total de 187 muestras, pero ambos solo coinciden en 103 muestras analizadas (55,08%), con lo que hay 24 muestras (12,83%) con índice IgG elevado que no presentan bandas oligoclonales y 60 (32,08%) de estas bandas no se corresponde con niveles elevados del índice IgG. Se estudiaron las historias clínicas de 50 pacientes que presentaron BOC, encontrándose que más de la mitad, (62%), fueron diagnosticados de EM. Ninguno de los pacientes que tenían solo el índice IgG elevado fue diagnosticado de EM.

Conclusiones: La determinación de síntesis intratecal de IgG difiere dependiendo del método usado para su análisis, siendo el método cualitativo el de referencia para la EM. El análisis cuantitativo es un test complementario pero no puede sustituir al estudio de BOC, de mayor sensibilidad y especificidad. Síntesis intratecal de IgG puede observarse también en pacientes con otras afecciones inflamatorias o infecciosas del SNC. La existencia de BOC, aún siendo el método estándar, no es específica de EM y puede darse en otras patologías que presenten una respuesta inmune asociada.

0035. RELACIÓN ENTRE INMUNOFIJACIÓN EN SUERO Y COCIENTE DE CADENAS LIGERAS LIBRES EN SUERO EN EL MIELOMA MÚLTIPLE

E. Bonet Estruch, R.M. Pascual Costa, M.J. Moreno Monedero y B. Laiz Marro

Departamento de Inmunología. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia. España.

Introducción: La inmunofijación en suero es el gold standard para la identificación y cuantificación del componente monoclonal en gammopatías monoclonales. Esta técnica, pese a tener una alta sensibilidad, está sujeta a la subjetividad y no es de utilidad en determinadas gammopatías en las que la secreción del componente monoclonal no es lo suficientemente alta como en el mieloma múltiple (MM) no secretor, el de cadenas ligeras, la amiloidosis primaria sistémica y la enfermedad por depósitos de cadenas ligeras. Se ha desarrollado un test que cuantifica las cadenas ligeras libres en suero (CLLS). Esta determinación hace posible la detección y seguimiento de las gammopatías no secretoras y ha sido incluido como criterio de remisión completa estricta en el MM. El grupo internacional de mieloma (Internacional Myeloma Working Group, IMWG) ha propuesto un criterio consensuado de respuesta en el que se considera dos conceptos: remisión completa y remisión completa estricta. La remisión completa se alcanza cuando la inmunofijación es negativa en suero y orina, existe una desaparición de plasmocitomas en tejidos blandos y el número de células plasmáticas en médula ósea es $\leq 5\%$. La remisión completa estricta incluye los criterios de la remisión completa y además un cociente de las CLLS normal (0.26-1.65), en dos determinaciones consecutivas.

Objetivos: Valorar la relación entre la inmunofijación en suero y orina y el cociente de las CLLS. Determinar la sensibilidad y especificidad del cociente CLLS en pacientes con mielomas secretores como criterio de remisión completa estricta.

Pacientes y métodos: Se realiza un estudio retrospectivo de 122 peticiones procedentes del Servicio de Hematología de nuestro hospital comprendidas entre junio de 2010 a junio de 2011, a las que se les solicitaba inmunofijación en suero, orina y cociente de CLLS. La determinación de CLLS se realizó con el test de Freelite® (Binding Site Ltd., Birmingham, RU) adaptado al nefelómetro BN II (Siemens). Este ensayo utiliza anticuerpos policlonales que reaccionan con los epítomos de la cadena ligera que están expuestos cuando no está unida a la cadena pesada.

Resultados: Para la determinación de la sensibilidad y especificidad, se consideró el valor de la inmunofijación como indicador estándar de enfermedad. La sensibilidad y la especificidad de las CLLS fue de 76% y 85%, respectivamente. El valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) fue de 94% y 51%, respectivamente. Se excluyeron 9 peticiones de pacientes con mieloma de Bence Jones ya que la inmunofijación en suero no es el indicador estándar para el diagnóstico de esta enfermedad.

Inmunofijación	Cociente cadenas ligeras libres	
	Positivo < 0,26 o > 1,65	Negativo 0,26-1,65
Positiva	57 (50%)	27 (24%)
Negativa	5 (5%)	24 (21%)

Conclusiones: Dado el alto VPP, se puede considerar que el cociente anormal de las CLLS es un indicador de presencia de enfermedad. El VPN, ante un cociente normal de CLLS, no permite confirmar ausencia de enfermedad. Por tanto, el cociente de CLLS deberá considerarse como un valor añadido a la inmunofijación, salvo en los casos en los que la inmunofijación no está indicada para el diagnóstico de la enfermedad.

0036. INMUNOFENOTIPAJE DE LINFOCITOS INTRAEPITELIALES EN EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDAD CELIACA

O. Montes Ares, D. González Santana, J.C. Ramos Varela, L. Peña Quintana y A. Torio Ruiz

Complejo Hospitalario Materno Insular. Las Palmas de Gran Canaria. España.

Introducción: El desarrollo de la técnica mediante citometría de flujo de la determinación del inmunofenotipo de los linfocitos intraepiteliales (i-LIE) de las biopsias duodenales, ha permitido una mejor caracterización de las alteraciones que se producen en la enfermedad celiaca. La técnica precisa de una única pieza de biopsia endoscópica, no interfiriendo en modo alguno con el estudio anatomopatológico clásico. Es la única prueba que permanece alterada tras la exclusión del gluten de la dieta. El inmunofenotipo celiaco se caracteriza por un aumento del total de i-LIE acompañado de un aumento de los i-LIE CD3+ TCR $\gamma\delta$ y de una disminución de los linfocitos CD3- CD103+ i-NK like. El objetivo de este estudio es evaluar los datos obtenidos tras la reciente implantación de la técnica en pacientes pediátricos.

Material y métodos: Se ha analizado mediante citometría de flujo el inmunofenotipo de los i-LIE (linfograma intraepitelial) en un total de 25 biopsias intestinales de pacientes pediátricos, con edades comprendidas entre 1 y 7 años, en los que existía sospecha clínica de enfermedad celiaca y además algún marcador serológico era positivo (anticuerpos antitransglutaminasa, anticuerpos anti gliadina y/o anticuerpos anti endomisio).

Resultados: Los linfogramas realizados ofrecieron los siguientes datos: i-LIE totales: media de 13,7% (máximo 27%, mínimo 4%), i-LIE TCR $\gamma\delta$ media de 20,6% (máximo 43%, mínimo 3%), linfocitos i-NKlike: media 7,9% (máximo 35%, mínimo 1%). Las muestras en las que las 3 alteraciones descritas en la enfermedad celiaca se mostraron más evidentes fueron en las que más tarde el análisis anatomopatológico reveló alteraciones más severas en la mucosa intestinal (Marsh 3A, 3B o 3C). Los casos en los que los marcadores serológicos eran dudosos o había discrepancia entre ellos fueron los que ofrecieron una información más interesante, en 6 casos en los que los anticuerpos anti endomisio eran negativos y los anticuerpos anti transglutaminasa eran positivos/dudosos, los porcentajes obtenidos en el linfograma se encontraban dentro de la normalidad y la histología era normal o con alteraciones no propias de la enfermedad celiaca.

Conclusiones: La determinación inmunofenotípica de los i-LIE es una técnica rápida y económica que complementa al estudio anatomopatológico. Posee buena sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de la enfermedad celiaca y tiene una aplicación más relevante en el caso de presentaciones atípicas, en formas en las que los marcadores serológicos no son de aparición constante y en formas silentes o latentes.

0037. ESTUDIO DE LA SENSIBILIZACIÓN DE PACIENTES ALÉRGICOS BASADO EN EL DIAGNÓSTICO POR SEPARACIÓN DE COMPONENTES

S. Gutiérrez Moreno, M. Morito Aguilar, F.J. García Iñigo, J.M. Acedo Sanz, S. Ocaña López, M.L. Casas Losada y F. Cava Valenciano

Fundación Alcorcón. Getafe. España.

Introducción: Los extractos alérgenos empleados en el diagnóstico "in vitro" tradicional de la alergia contienen múltiples proteínas alérgicas. Muchas fuentes biológicas presentan componentes alérgicos con reactividad cruzada. La sensibilización frente a dichos panalergenos puede originar resultados positivos frente a extractos procedentes de diferentes fuentes. El empleo de moléculas de alérgenos purificados principalmente recombinantes

en el estudio "in vitro" de la alergia permite utilizar el denominado "diagnóstico por separación de componentes" (CDR), mediante el cual identificamos individualmente los alérgenos que producen la enfermedad en cada paciente, y podemos llegar a diferenciar la reactividad cruzada de la co-sensibilización. Uno de los principales grupos de marcadores de reactividad cruzada frente a proteínas de origen vegetal es el compuesto por la familia de las proteínas de transferencia de lípidos (LTP). Las LTP presentan unas características estructurales comunes, una es la presencia de 4 puentes disulfuro que les confiere una gran estabilidad al calor y la digestión. Las LTP se hallan en una gran diversidad de especies y tejidos vegetales, como en pólenes (olivo) y alimentos (rosáceas). Lo más destacable de la sensibilización a las LTP es su mayor prevalencia en el sur de Europa, estas son las principales moléculas alérgicas asociadas a las frutas. Es importante reseñar que en los países del centro y norte de Europa la sensibilización a las LTP es poco frecuente.

Material y métodos: La tecnología de InmunoCAP ISAC está basada en la biotecnología de los biochips. Es una plataforma de microinmunoensayos que permite realizar simultáneamente en un biochip el estudio de 118 proteínas alérgicas utilizando solo 20 µl de suero o plasma. Los resultados se miden con un escáner específico de microarrays y se evalúan con un software patentado.

Resultados: Los resultados obtenidos del estudio realizado en nuestro hospital a 254 pacientes durante el periodo de marzo de 2009 hasta noviembre de 2010 fueron los siguientes: 204 pacientes tuvieron anticuerpos IgE a panalérgenos; 80% de reactividad cruzada; 29 pacientes presentaron reactividad únicamente frente a marcadores específicos; 22 pacientes no mostraron reactividad en el analizador. Nº de personas con marcadores de reactividad cruzada frente a proteínas de origen vegetal: LTP: 89; PR10: 90; Pol-calcaína: 35; CCD/bromelina: 20; Profilina: 88. Nº de personas con marcadores de reactividad cruzada frente a proteínas de origen "no vegetal": cistein-proteasa: 24; NPC2: 26; Parvoalbumina: 47; Tropomiosina 34; Albúmina: 55. De los 254 pacientes estudiados, 89 de ellos fueron positivos para una o varias LTPs, como se muestra en la tabla.

LTP	Nº de pacientes con resultado positivo	%
Prup 3	78	87,64
Cor a8	46	51,68
Art v3	51	57,3
Parj 2	4	4,49

Conclusiones: Los alérgenos recombinantes permiten realizar el diagnóstico por separación de componentes. Permite identificar pacientes co-sensibilizados. Diferencia la sensibilización frente a panalérgenos. En conclusión, mejora el perfil de sensibilización de cada paciente.

0038. COMPARACIÓN DE LA DETERMINACIÓN DE LOS ANTICUERPOS IGG E IGM CONTRA BETA2-GLICOPROTEÍNA I EN PLASMA CITRATADO Y SUERO

C. Prieto Valtuille, S. del Corral Navarro, G. Aguirre Mota, M. Sasieta Altuna, I. Ancín Arteaga, D. Jiménez González y A. López Urrutia

Hospital de Cruces. Barakaldo. España.

Introducción y objetivos: Los anticuerpos contra beta2-glicoproteína I pertenecen al grupo de anticuerpos anti-fosfolípidos que se unen a fosfolípidos cargados negativamente (p.e. cardiolipina) y proteínas del plasma como beta2-glicoproteína I, protrombina, proteína C o proteína S. Estos anticuerpos se encuentran frecuentemente en sueros de pacientes con lupus eritematoso sistémico y enfermedades relacionadas, y son típicos en el desarrollo secundario de un síndrome anti-fosfolipídico (SAF). Los anticuerpos anti-

fosfolípidos en pacientes sin ninguna otra enfermedad autoinmune caracterizan a un SAF primario. El objetivo de este estudio ha sido conocer la correlación y concordancia entre los valores en muestras de plasma citratado y suero en la determinación de anticuerpos IgG e IgM contra β2 glicoproteína I utilizando el kit AESKULISA® β2 Glyco-GM.

Material y métodos: Estudiamos 103 muestras de suero y plasma citratado de pacientes procedentes del Servicio de Hematología de nuestro hospital, obtenidas por punción venosa con tubos Vacutainer®. Se determinaron en paralelo por enzimoanálisis en el analizador TRITURUS utilizando el kit AESKULISA® β2 Glyco-GM (el fabricante aconseja el uso de suero para realizar esta determinación). Consideramos positivos los resultados ≥ 15 UI/ml. Para el estudio de correlación empleamos la recta de regresión de Passing-Bablok mediante el programa estadístico MedCalc (v 9.5.2.0) y para el análisis de concordancia aplicamos el índice Kappa mediante el programa SPSS v19.0.

Resultados: Los resultados del análisis de comparación entre plasma citratado y suero según Passing-Bablok se muestran en la tabla. En el estudio de la concordancia para IgG obtuvimos un índice Kappa = 0,785 (p < 0,001), y para IgM un índice Kappa = 0,69 (p < 0,001). En IgG el grado de acuerdo para resultados positivos fue de 66,67% y para negativos del 100%. En IgM de 65,21% para positivos y de 97,43% para negativos.

	r	Ordenada (IC95%)	Pendiente (IC95%)	n
Anticuerpos IgG	0,96	0,1713 (-0,21-0,63)	1,38 (1,22-1,65)*	103
Anticuerpos IgM	0,90	0,35 (-0,52-1,11)	1,57 (1,19-1,89)*	103

*Diferencias sistemáticas proporcionales (ES).

Conclusiones: Existe una buena correlación y concordancia, tanto en plasma citratado como en suero para ambas determinaciones. Sin embargo, el error proporcional sistemático encontrado en ambos casos refleja la tendencia del plasma a sobreestimar la concentración de ambos anticuerpos.

0039. PREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTITRANSGLUTAMINASA

A. Gorostidi Pulgar^a, A. Mosquera Gorostidi^b y C. Donlo Gil^b

^aCS Dr San Martín, Pamplona. España. ^bC.H. de Navarra. España.

Introducción: La enfermedad celíaca (EC) es una enteropatía de base inmunológica debida a una intolerancia permanente al gluten de los cereales que ocurre en sujetos genéticamente predispuestos. Hasta hace unos 15 años era considerada una enfermedad poco frecuente que afectaba fundamentalmente a niños de origen caucásico, y que se manifestaba con un cuadro de malabsorción intestinal. En la actualidad la enfermedad celíaca es un proceso frecuente, de distribución mundial, que afecta tanto a niños como adultos y que puede manifestarse con formas clínicas típicas, atípicas o silentes. La inclusión de la determinación de anticuerpos antitransglutaminasa en la cartera de servicios de nuestro laboratorio, donde un 90% de los pacientes proceden de atención primaria, ha contribuido a facilitar el diagnóstico de esta enfermedad.

Objetivos: Valorar la prevalencia de determinaciones positivas, frente al número total solicitado.

Material y métodos: Estudio retrospectivo de solicitudes de anticuerpos IgA antitransglutaminasa, realizadas entre enero del 2010 y diciembre del 2010. Los pacientes provenían de atención primaria y cumplían alguno de los siguientes criterios clínicos: dia-

rrea, distensión abdominal, retraso de talla, anemia ferropénica o pérdida de peso. El espécimen, muestra de suero centrifugada a 3.500 rpm. Durante 10 minutos. Se determinan anticuerpos IgA antitransglutaminasa, utilizando un ensayo de enzimoimmunoanálisis Organtec (Palex- Médica). Valores superiores a 10 UI/mL se consideran positivos. Valores inferiores a 10 UI/mL se consideran negativos.

Resultados: Se procesan 5.087 muestras: 1.502 eran niños de 0 a 15 años y 3.585 adultos, mayores de 15 años. En los niños de las 1.502 solicitudes, fueron positivas 60 (4%). En los adultos de las 3.585 solicitudes, fueron positivas 124 (3,5%).

Conclusiones: 1. Es importante conocer la prevalencia de la EC en nuestra área, ya que difiere mucho de unas zonas a otras y es de un 4% en niños y de un 3,5% en adultos. 2. La cantidad de pacientes diagnosticados va a depender del conocimiento de la enfermedad sobre todo por los médicos y de que puedan sospechar y pedir las pruebas de laboratorio fácilmente -anticuerpos antitransglutaminasa- ya que hasta hace unos pocos años muy pocos laboratorios los hacían.

nar nuevas muestras de vasculitis bien diagnosticadas y repetir el estudio.

0040. GRADO DE CONCORDANCIA DE LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-PR3 Y ANTI-MPO MEDIANTE QUIMIOLUMINISCENCIA FRENTE A ENZIMOIMMUNOANÁLISIS

L. Abellán, M.P. Villanueva, A. Cuesta, P. Laporta, S. Sáez, I. Guerra y A. Carratalá

Hospital Clínico de Valencia. España.

Introducción: Los anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilo (ANCA) son marcadores serológicos de vasculitis necrotrizantes de pequeño o mediano calibre que colectivamente se denominan vasculitis asociadas a ANCA. Los anticuerpos se dirigen contra las proteínas PR3 (proteinasa) o c-ANCA y MPO (mieloperoxidasa) o p-ANCA. Actualmente realizamos estos análisis mediante enzimoimmunoanálisis. Acumulamos las muestras de los pacientes y las procesamos un día a la semana. Si existe una urgencia, debemos modificar la rutina del laboratorio para analizar esa muestra. Esto supone un aumento del gasto ya que hay que procesar la muestra, los estándares y los controles, además de un retraso del resto de los análisis.

Objetivos: Hallar el grado de concordancia entre una técnica de quimioluminiscencia (CLIA) para la determinación de anticuerpos tipo IgG contra la proteinasa 3 (PR3) y mieloperoxidasa (MPO) y el enzimoimmunoanálisis (ELISA) de rutina. Evaluar la posibilidad de cambiar de ELISA a CLIA.

Material y métodos: Se analizaron en paralelo los anticuerpos anti-PR3 en suero de 147 pacientes y anticuerpos anti-MPO de 148 pacientes mediante CLIA en el instrumento Zenit-Ra Analyser (Menarini) y un ELISA (Orgentec) en el analizador DSX. Las muestras se conservaron en nevera no más de 5 días, hasta su procesamiento. El grado de concordancia se estudió mediante el estadístico kappa.

Resultados: Se obtuvo para anti-PR3 140 valores negativos, 3 positivos por ambos métodos y 4 resultados discordantes. Se calculó el índice kappa de concordancia que resultó ser de 0,586. Los resultados para anti-MPO fueron 131 negativos, 6 positivos por los dos métodos y 11 valores discordantes. De estos últimos, 10 fueron positivos por ELISA y negativos para CLIA, y uno positivo por CLIA y negativo por ELISA. El índice kappa fue de 0,488. El estadístico kappa en ambos casos indica un moderado grado de concordancia. De los casos discrepantes para PR3, no constaban datos clínicos, con lo que no se pudo concluir cual de los resultados era el verdadero. Análogamente, para el MPO los datos clínicos no fueron concluyentes.

Conclusiones: Dado que la concordancia no es óptima entre los dos métodos, no podemos cambiar al nuevo CLIA hasta seleccio-