

- REVISTA DE -

# MEDICINA DE LABORATORIO

ISSN (versión papel): 2660-7484

ISSN (versión electrónica): 2660-7638

Vol. 4 Núm. 2 | mayo-agosto 2023 | Págs. 45-83

## Editorial

Sistemas de ayuda a la decisión clínica: un paso adelante en la Medicina de Laboratorio ..... 45  
*E. Flores Pardo*

## Original Breve

Valor del ancho de distribución de monocitos (MDW) en infecciones por virus respiratorios ..... 48  
*M. Palomino Alonso, F. Calvo Boyero, S. Gómez Rojas*

## Revisión

Estudio de la talasemia  $\beta$  en el Laboratorio Clínico estrategias diagnósticas ..... 53  
*H. López-Escribano, A. Martí Martínez*

## Artículo Especial

Propuesta de gestión de muestras externalizadas desde la perspectiva de la seguridad del paciente ..... 64  
*M. Orera Clemente, E. J. Laserna Mendieta, R. Mondéjar García, P. Sanz Martín, M. Molina Romero*

## Casos Clínicos

Diagnóstico casual de fabismo en paciente enólico ..... 72  
*C. Requena Triguero, I. Fort Gallifa, M. V. Rivera Moreno, M. Galofré Giralt, L. C. Vicente Pérez, M. T. Sans Mateu*

Lupus inducido por infliximab en paciente con enfermedad de Crohn ..... 75  
*K. Sidak, A. Rodríguez Martín, M. Barrionuevo González, F. Álvarez Castellanos, J. M. Gasalla Herráiz*

Choriocarcinoma with hyperthyroidism mediated by hCG ..... 79  
*P. Dias Silva, S. Gil-Santos, C. Oliveira, I. Inácio, N. Gonçalves*

## Imágenes/Infografías

Cristales verdes en neutrófilos de paciente hematológico ..... 82  
*M. Capilla Díez, S. Y. Urrutia Rodríguez*

**AEBM-ML**  
Asociación Española de  
Biopatología Médica - Medicina de Laboratorio

**AEFA**  
Asociación Española del Laboratorio Clínico

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

ARÁN

©AEBM-ML (2023)  
©AEFA (2023)  
©Arán Ediciones, S.L. (2023)

La *Revista de Medicina de Laboratorio* es una revista open access, lo que quiere decir que todo su contenido es accesible libremente sin cargo para el usuario individual y sin fines comerciales. Los usuarios individuales están autorizados a leer, descargar, copiar, distribuir, imprimir, buscar o enlazar a los textos completos de los artículos de esta revista sin permiso previo del editor o del autor, de acuerdo con la definición BOAI (Budapest Open Access Initiative) de open access. La reutilización de los trabajos puede hacerse siempre y cuando el trabajo no se altere en su integridad y sus autores sean adecuadamente referenciados o citados en sucesivos usos, y sin derecho a la producción de obras derivadas

Esta revista se publica bajo la licencia CC BY-NC-SA (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>)



ISSN electrónico: 2660-7638  
ISSN papel: 2660-7484  
Publicación cuatrimestral  
Depósito legal: M-14367-2023

#### Edición y administración:



Arán Ediciones, S.L.  
Castelló, 128, 1.º  
Tel. +34 91 745 17 29  
28006 Madrid (España)

#### Suscripciones:

##### Tarifa de suscripción anual (España):

Profesionales 95 € + IVA - Instituciones 120 € + IVA

##### Tarifa de suscripción anual (internacional):

250 € + IVA

Aran Ediciones, S.L.  
Castelló, 128, 1.º - 28006 Madrid (España) - Teléfono: +34 91 745 17 29  
Correo electrónico: [suscripc@grupoaran.com](mailto:suscripc@grupoaran.com)

Reservados todos los derechos. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, transmitida en ninguna forma o medio alguno, electrónico o mecánico, incluyendo fotocopias, grabaciones o cualquier sistema de recuperación de almacenaje de información, sin la autorización por escrito del titular del Copyright.

La editorial declina toda responsabilidad sobre el contenido de los artículos que aparezcan en esta publicación.

## Equipo Directivo

### DIRECTOR

Dr. Enrique Rodríguez Borja  
(Hospital Clínico Universitario de Valencia, Valencia)  
enrobor@gmail.com

### EDITORA JEFE

Dra. M<sup>a</sup> del Rosario Caro Narrós  
(Complejo Asistencial de Segovia, Segovia)  
rcaro@saludcastillayleon.es

### EDITORES

Dra. Montserrat González Estecha  
(Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid)  
montse@cmpx.net

Dr. Joan Batista Castellví  
(Consultor Senior en Medicina de Laboratorio,  
Tarragona)  
jbatista@tinet.cat

## Editores Asociados

Díaz-Flores Estévez, Felicitas  
(Complejo Hospitalario Universitario de Canarias. San  
Cristóbal de La Laguna, Santa Cruz de Tenerife)  
fdiazflo@ull.edu.es/fdiaest@gobiernodecanarias.org

Gil Ruiz, María Teresa  
(Hospital General Nuestra Señora del Prado  
de Talavera de la Reina, Toledo)  
tgruiz@sescam.jccm.es

Kabaroglu, Ceyda  
(Department of Clinical Biochemistry. School of  
Medicine. Ege University. Izmir, Turkey)  
ckabaroglu@gmail.com

Laserna Mendieta, Emilio  
(Unidad de Investigación del Hospital General  
de Tomelloso, Ciudad Real. Instituto  
de Investigación Sanitaria del Hospital Universitario  
de La Princesa, Madrid)  
ejlaserna@gmail.com

López Gómez, Juan Manuel  
(Hospital Univ. de Badajoz, Badajoz)  
lopezhospi@gmail.com

Martínez Triguero, María Luisa  
(Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia)  
martinez\_mlutri@gva.es

Pérez García, Lourdes  
Laboratorio de Análisis Clínicos.  
Complejo Asistencial de Palencia. Palencia

Pineda Tenor, Daniel  
(Hospital de Antequera. Área de Gestión Sanitaria  
Norte de Málaga)  
dpinedatenor@gmail.com

Villalta Robles, Victoria  
(Complejo Asistencial de Segovia. Segovia)  
villaltarobles@gmail.com

## Consejo Asesor

Rui Manuel Amaro Pinto  
Profesor en la Facultad de Farmacia.  
Universidad de Lisboa. Portugal

Adela Castañeda de la Mata  
Especialista en Hematología y Hemoterapia.  
Hospital Universitario de Fuenlabrada.  
Fuenlabrada, Madrid. España

Gilbert C. Faure  
MD, PhD. Laboratoire d'Immunologie.  
Faculté de Médecine.  
Université Lorraine and CHU Nancy. France

Jesús Miguel García-Foncillas  
Director, Translational Oncology Division.  
Research Institute FJD-UAM. Madrid, España

Montserrat González Estecha  
Jefe de Servicio de Bioquímica Clínica.  
Hospital General Universitario Gregorio Marañón.  
Madrid, España

Juan Miguel Guerrero Montávez  
Jefe de Servicio de Bioquímica Clínica. Hospital  
Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. Catedrático  
vinculado a la Universidad de Sevilla. Sevilla, España

Gustav Kovac  
Slovak Medical University: Institute of Chemistry,  
Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.  
Bratislava, Slovak Republic

Vesna Kusec  
MD PhD. University Hospital Centre Zagreb. Clinical  
Institute of Laboratory Diagnosis Zagreb. Croatia

Juan Ernesto del Llano-Señaris  
Presidente de la Fundación Gaspar Casal.  
Madrid, España

Franklin Marques  
Profesor de la Facultad de Farmacia. Universidad  
de Porto. Laboratorio de Bioquímica. Porto, Portugal

Luis Nogueira Martins  
Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa.  
Lisboa, Portugal

Leverton Ortiz Cáceres  
Jefe del Laboratorio Clínico. Hospital de la Serena.  
Chile

Wytze Pier Oosterhuis  
Zuyderland Medical Center. Heerlen/Sittard.  
The Netherlands

M.<sup>a</sup> del Carmen Pasquel  
Directora General Revista DIV/RIA/IFCC.  
Asesora Regional de la Fundación Wiener. Ecuador

Patrick Twomey  
Professor. Consultant Chemical Pathologist.  
Head of Department/Laboratory Director for Clinical  
Chemistry. St. Vincent's University Hospital.  
Dublin, Ireland

Roberto Verna  
MD PhD. Professor Faculty of Medicine.  
Sapienza University of Rome. President of World  
Association of Societies of Pathology and  
Laboratory Medicine. President of World Pathology  
Foundation. Rome, Italy



María S. Pacheco Delgado

**Presidente de la Asociación Española  
de Biopatología Médica-Medicina de Laboratorio (AEBM-ML)**



Antonio Rider Pérez

**Presidente de la Asociación Española  
del Laboratorio Clínico**





# - REVISTA DE - MEDICINA DE LABORATORIO

www.revistamedicinadelaboratorio.es

Vol. 4 Núm. 2 | mayo-agosto 2023

## Sumario

### Editorial

Sistemas de ayuda a la decisión clínica: un paso adelante en la Medicina de Laboratorio ..... 45  
*E. Flores Pardo*

### Original Breve

Valor del ancho de distribución de monocitos (MDW) en infecciones por virus respiratorios ..... 48  
*M. Palomino Alonso, F. Calvo Boyero, S. Gómez Rojas*

### Revisión

Estudio de la talasemia  $\beta$  en el Laboratorio Clínico: estrategias diagnósticas .... 53  
*H. López-Escribano, A. Martí Martínez*

### Artículo Especial

Propuesta de gestión de muestras externalizadas desde la perspectiva de la seguridad del paciente ..... 64  
*M. Orera Clemente, E. J. Laserna Mendieta, R. Mondéjar García, P. Sanz Martín, M. Molina Romero*

### Casos Clínicos

Diagnóstico casual de fabismo en paciente enólico ..... 72  
*C. Requena Triguero, I. Fort Gallifa, M. V. Rivera Moreno, M. Galofré Giralt, L. C. Vicente Pérez, M. T. Sans Mateu*

Lupus inducido por infliximab en paciente con enfermedad de Crohn ..... 75  
*K. Sidak, A. Rodríguez Martín, M. Barrionuevo González, F. Álvarez Castellanos, J. M. Gasalla Herráiz*

Coriocarcinoma con hipertiroidismo mediado por hCG ..... 79  
*P. Dias Silva, S. Gil-Santos, C. Oliveira, I. Inácio, N. Gonçalves*

### Imágenes/Infografías

Cristales verdes en neutrófilos de paciente hematológico ..... 82  
*M. Capilla Díez, S. Y. Urrutia Rodríguez*



- REVISTA DE -  
**MEDICINA DE  
LABORATORIO**

www.revistamedicinadelaboratorio.es

Vol. 4 No. 2 | May-August 2023

## Summary

### Editorial

Clinical decision support systems: a step forward in Laboratory Medicine ..... 45  
*E. Flores Pardo*

### Brief Original

Value of monocyte distribution width (MDW) in respiratory virus infections ..... 48  
*M. Palomino Alonso, F. Calvo Boyero, S. Gómez Rojas*

### Review

Study of beta thalassemia in the Clinical Laboratory: diagnostic strategies ..... 53  
*H. López-Escribano, A. Martí Martínez*

### Special Article

Sendout testing management: a proposal to improve patient's safety ..... 64  
*M. Orera Clemente, E. J. Laserna Mendieta, R. Mondéjar García, P. Sanz Martín,  
M. Molina Romero*

### Case Reports

Casual diagnosis of favism in an alcoholic patient ..... 72  
*C. Requena Triguero, I. Fort Gallifa, M. V. Rivera Moreno, M. Galofré Giral,  
L. C. Vicente Pérez, M. T. Sans Mateu*

Infliximab-induced lupus in a patient with Crohn's disease ..... 75  
*K. Sidak, A. Rodríguez Martín, M. Barrionuevo González, F. Álvarez Castellanos,  
J. M. Gasalla Herráiz*

Choriocarcinoma with hyperthyroidism mediated by hCG ..... 79  
*P. Dias Silva, S. Gil-Santos, C. Oliveira, I. Inácio, N. Gonçalves*

### Images/Infographics

Green crystals in neutrophils of a hematological patient ..... 82  
*M. Capilla Díez, S. Y. Urrutia Rodríguez*



## Sistemas de ayuda a la decisión clínica: un paso adelante en la Medicina de Laboratorio

### *Clinical decision support systems: a step forward in Laboratory Medicine*

En los últimos años se ha producido un desarrollo exponencial de las tecnologías de la información y de la comunicación (TIC). El impacto en salud ha sido claro y todos los registros sanitarios están digitalizándose (1). El Laboratorio Clínico (LC) parte de una situación óptima, puesto que ha integrado las TIC en sus flujos de trabajo desde hace años. La inclusión del código de barras, la computarización de los datos, los *middlewares* o los Sistemas de Información de Laboratorio (SIL) son claros ejemplos. Además de disponer de gran cantidad de registros históricos, esta información es de gran calidad, porque toda la información es estructurada. Estos aspectos nos sitúan, de lejos, en una posición aventajada en el mundo sanitario (2).

Desde que Lundberg describiera el ciclo total del LC (3), los esfuerzos principales han ido enfocados a mejorar las fases preanalítica, analítica y postanalítica. Hoy en día, la tecnología, los procesos y la alta capacidad de los profesionales permiten procesar una gran cantidad de muestras con una alta calidad y en tiempos cada vez más reducidos. Sin embargo, otras fases del ciclo del laboratorio, como la gestión de demanda (GD) y la gestión de resultado (GR), no han mejorado en la misma sintonía; y siguen siendo las fases en las que más errores se producen, pese a ser las que más impacto generan en los pacientes (4).

Existen distintas barreras para actuar sobre estas fases. Primero, necesidad de tiempo del personal facultativo, dedicado en gran medida a la validación y a la resolución de problemas del día a día. En segundo lugar, la dificultad de acceso a la información importante. La información hoy en día es accesible, ya que está digitalizada, pero su acceso es costoso en tiempo e interpretación. Finalmente, la falta de un modelo de laboratorio

que permita poner el foco en estas fases para impulsar cambios internos y externos que impliquen a otros servicios.

En los últimos años el modelo de Medicina de Laboratorio (ML) ha evolucionado significativamente, partiendo del modelo de "laboratorio tradicional" al de "laboratorio tecnológico", centrado en la tecnología y con acciones enfocadas en reducir el exceso de demanda a través de indicadores de proceso, como el número de pruebas y su coste. Un paso más adelante se sitúa el modelo de "laboratorio líder" descrito por Salinas y cols. (5), orientado a las etapas de GD y GR. En este enfoque, el LC no solo participa en la decisión clínica, sino que también la lidera: complementa los valores tradicionales de conocimiento y comunicación, con el liderazgo y la imaginación creativa, y monitoriza su actividad utilizando indicadores de resultados, como el número de nuevos pacientes diagnosticados, monitorizados o tratados (6).

Por otro lado, las TIC están proporcionando nuevas herramientas que pueden ayudar al LC a superar el resto de barreras. Los sistemas de ayuda a la decisión clínica (CDSS) se definen como cualquier herramienta que ayuda en la toma de decisiones clínicas (7,8). Su funcionamiento está basado en la capacidad de conexión a distintas bases de datos (BD), en la selección de información pertinente, la estructuración en un mismo formato, la interrelación y, si cumplen determinadas condiciones, en la generación de diversos tipos de acciones. Estas acciones proporcionan el soporte para la toma de decisiones clínicas. Aunque este tipo de herramientas se han utilizado exitosamente en Servicios de Urgencias o de Críticos, en ML se han limitado al sistema de petición electrónica (CPOE) (9).

La implementación de un CDSS requiere de una serie de etapas bien definidas. El primer proceso clave es la identificación de la información relevante: información del laboratorio, que se obtiene del SIL y del CPOE, de los datos de peticiones, de los resultados y de los datos históricos; información administrativa, que señalan datos relativos al área de salud a la que pertenece el paciente o a su médico asignado, y finalmente podemos identificar la información clínica del paciente, como la historia clínica electrónica (EMR), de la que podemos obtener información estructurada, como constantes vitales, escalas, medicación y diagnósticos. La integración con documentación clínica también permite seleccionar información sobre diagnósticos y procedimientos codificados de alta calidad de todos los pacientes que son hospitalizados.

El segundo proceso clave es la definición del evento en el que el CDSS va a consultar esa información, ya que va a condicionarnos cuándo podemos actuar. El momento en el que el clínico inicia una solicitud en el CPOE o se activa en el laboratorio son momentos claves, pero también cada vez que se genera cualquier nuevo resultado. Es importante que el proceso de consultar esta información sea ágil, puesto que estos sistemas no almacenan la información por política de protección de datos, sino que cada evento consulta de nuevo toda la información.

El tercer punto importante es la estructuración de la información. CDSS puede definir muchos tipos variables a partir de los datos que consulta. Este punto dependerá de cómo queramos utilizar la información. Algunos ejemplos pueden ser: agrupar códigos diagnósticos o definir puntos de corte en variables numéricas, como datos de laboratorio o constantes vitales.

El cuarto punto es la capacidad de generar reglas o condiciones en cada caso. Se trata de asociar toda la información disponible para confirmar o descartar si se cumplen o no las hipótesis planteadas. Estos sistemas son muy versátiles en la construcción de reglas porque han sido diseñados con ese propósito y su catálogo de condiciones y sintaxis es muy superior al de cualquier SIL.

El último punto fundamental son las acciones que va a generar. Deben de estar enfocadas a la ayuda de la toma de decisión interna o externa y dependerán del nivel de integración de cada sistema. Pueden enfocarse a la gestión de pruebas, como pueda ser añadir, quitar, retener o validar pruebas, a los comentarios al informe de resultados o al personal del LC o al envío de avisos al móvil o al correo electrónico; incluso integrase con las EMR para incluir avisos, diagnósticos o solicitar exploraciones complementarias (2). Finalmente, el CDSS puede integrarse con herramientas desarrolladas con inteligencia artificial (IA) para poder incluirlas en los flujos de trabajo asistenciales.

La evidencia actual sugiere que en un futuro no muy lejano podremos contar con algoritmos de IA a tiempo real que analicen multitud de variables para predecir determinadas patologías. Estar armado con estas herramientas en el lugar donde más y mejores datos hay en el ámbito sanitario es sin duda posicionarnos en un lugar privilegiado.

La adopción de CDSS puede mejorar y hacer más robustos los procesos internos del LC, liberando tiempo del personal en muchas de las tareas habituales, a la vez que sistematizamos acciones de forma más rápida. Algunos ejemplos pueden ser la implementación de algoritmos que puedan detectar errores en la integridad de las muestras o en los procesos de extracción, proponer repeticiones o ampliaciones de pruebas, comunicar al personal de forma interna tareas o comprobaciones a realizar, aplicar criterios de validación facultativa en los resultados obtenidos contrastando con el diagnóstico del paciente o comunicar resultados críticos al clínico a través de un mensaje en su teléfono móvil corporativo.

En la GD se abre una vía ilimitada, puesto que en el momento en el que el clínico entra en el módulo del CPOE estos sistemas son conocedores de todo su historial clínico y analítico, por lo que en cuestión de décimas de segundo es capaz de proponer nuevos estudios o sugerir la poca utilidad de otros. Es inabarcable para el clínico solicitante el análisis de tanta información en tan poco tiempo y esto proporciona un apoyo inestimable a la solicitud.

La GR implica una decisión clínica (10). Los CDSS nos ayudan a entender el contexto del paciente y la probabilidad pretest, analizando factores de riesgo, procedimientos previos, constantes vitales, medicación o sintomatología actual. A partir de aquí, la programación de los algoritmos puede orientar en la probabilidad de diagnosticar una enfermedad, como puede ser la insuficiencia cardíaca, y así indicar al médico un posible cambio significativo en la monitorización de un valor de NT-ProBNP que sugiera al clínico una modificación del tratamiento (11). Pero estos sistemas también son capaces de aunar resultados analíticos y clínicos para el cálculo de escalas de pronóstico, como Ranson o SIRS en la pancreatitis o el SOFA en la sepsis, para guiar al paciente y al clínico en la ruta asistencial más adecuada (12,13).

El abordaje del crecimiento exponencial del conocimiento clínico y la disponibilidad masiva de datos se plantean como retos para los clínicos debido a que el tiempo es limitado, pero también son oportunidades. Nunca ha sido tan importante la necesidad de la ML de contribuir a las decisiones clínicas. Existe mucha diferencia entre lo que se aporta y lo que podríamos ser capaces de aportar, por lo que tenemos delante

una oportunidad única de reestructurar la ML y reposicionarnos como agentes activos dentro del proceso asistencial (14). Para ello contamos con la experiencia en el uso de TIC, buenas BD y herramientas como los CDSS, que van a permitirnos dar un paso adelante para la mejora de la asistencia del paciente.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Cadamuro J. Rise of the machines: The inevitable evolution of medicine and medical laboratories intertwining with artificial intelligence-a narrative review. *Diagnostics (Basel)* 2021;11(8):1399. DOI: 10.3390/diagnostics11081399
2. Hughes AEO, Jackups R. Clinical Decision Support for Laboratory Testing. *Clin Chem* 2022;68(3):402-12. DOI: 10.1093/clinchem/hvab201
3. Lundberg GD. Acting on Significant Laboratory Results. *JAMA* 1981;245(17):1762. DOI: 10.1001/jama.1981.03310420052033
4. Stroobants AK, Goldschmidt HMJ, Plebani M. Error budget calculations in laboratory medicine: linking the concepts of biological variation and allowable medical errors. *Clinica Chimica Acta* 2003;333(2):169-76. DOI: 10.1016/S0009-8981(03)00181-5
5. Salinas M, López-Garrigós M, Flores E, Martín E, Leiva-Salinas C. The clinical laboratory: a decision maker hub. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* 2021;59(10):1634-41. DOI: 10.1515/cclm-2021-0421
6. Salinas LaCasta M. Towards a leader laboratory. *Revista de Medicina de Laboratorio* 2021;47(3):381-2. DOI: 10.20960/revmedlab.00078
7. Beeler PE, Bates DW, Hug BL. Clinical decision support systems. *Swiss Med Wkly* 2014;144:w14073. DOI: 10.4414/sm.w.2014.14073
8. Osheroff J, Teich J, Levick D, Saldana L, Velasco F, Sittig D, et al. *Improving Outcomes with Clinical Decision Support*. New York: HIMSS Publishing; 2012.
9. Noorbakhsh-Sabet N, Zand R, Zhang Y, Abedi V. Artificial Intelligence Transforms the Future of Health Care. *Am J Med* 2019;132(7):795-801.
10. Salinas M, Flores E, López-Garrigós M, Leiva-Salinas C. Vitamin B12 deficiency and clinical laboratory: Lessons revisited and clarified in seven questions. *Int J Lab Hematol* 2018;40.
11. Mueller C, McDonald K, de Boer RA, Maisel A, Cleland JG, Kozhuharov N, et al. *Eur J Heart Fail* 2019;21:715-31. DOI: 10.1002/ehfj.1494
12. Vincent JL, de Mendonca A, Cantraine F, Moreno R, Takala J, Suter PM, et al. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units. *Crit Care Med* 1998;26(11):1793-800.
13. Banks PA, Bollen TL, Dervenis C, Gooszen HG, Johnson CD, Sarr MG, et al. Classification of acute pancreatitis - 2012: Revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. *Gut* 2013;62(1):102-11.
14. Cadamuro J. Disruption vs. evolution in laboratory medicine. Current challenges and possible strategies, making laboratories and the laboratory specialist profession fit for the future. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* 2022;0(0).

---

*Conflicto de interés: el autor declara no tener conflicto de interés.*

**Emilio Flores Pardo**

Laboratorio de Análisis Clínicos.  
Hospital Universitario de San Juan. San Juan de Alicante,  
Alicante. Departamento de Medicina Clínica.  
Universidad Miguel Hernández. Elche, Alicante





## Original Breve

# Valor del ancho de distribución de monocitos (MDW) en infecciones por virus respiratorios

## *Value of monocyte distribution width (MDW) in respiratory virus infections*

Maialen Palomino Alonso<sup>1</sup>, Fernando Calvo Boyero<sup>1</sup>, Sandra Gómez Rojas<sup>2</sup>

Servicios de <sup>1</sup>Bioquímica y Análisis Clínicos, y de <sup>2</sup>Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

**Recibido:** 18/02/2023  
**Aceptado:** 06/07/2023

**Correspondencia:** Maialen Palomino Alonso. Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos. Hospital Universitario 12 de Octubre. Avda. de Córdoba, s/n. 28041 Madrid  
e-mail: mpalonso12@gmail.com

### Palabras clave:

MDW. Influenza A. SARS-CoV-2. Virus respiratorio sincitial.

### RESUMEN

**Introducción:** el ancho de distribución de monocitos (MDW) refleja heterogeneidad de los monocitos ante procesos inflamatorios o infecciosos.

**Objetivos:** estudiar el MDW en los virus influenza A, VRS y SARS-CoV-2 y valorar proponer puntos de corte para diferenciar pacientes con dichas infecciones virales.

**Material y métodos:** medición del MDW mediante analizador hematológico (Beckman-Coulter). Comparación entre medianas y establecimiento de punto de corte mediante curva ROC.

**Resultados:** el MDW fue superior en infección frente a controles; diferencia mayor para influenza A. Para este virus el AUC fue de 0,82. Proponemos 20,75 (sensibilidad: 92 %, especificidad: 65 %) como punto de corte para exclusión diagnóstica.

**Conclusión:** el MDW se eleva en las infecciones virales estudiadas.

*Conflicto de interés:* los autores declaran no tener conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00171

Palomino Alonso M, Calvo Boyero F, Gómez Rojas S. Valor del ancho de distribución de monocitos (MDW) en infecciones por virus respiratorios. Rev Med Lab 2023;4(2):48-52

**Keywords:**

MDW. Influenza A. SARS-CoV-2.  
Respiratory syncytial virus.

**ABSTRACT**

**Introduction:** monocyte distribution width (MDW) reflects monocyte heterogeneity in inflammatory and/or infectious processes.

**Objectives:** to study MDW in Influenza-A, RSV and SARS-CoV-2 viruses. Consider proposing cut-off points to differentiate patients with such viral infections.

**Material and methods:** measurement of MDW using a haematological analyser (Beckman-Coulter). Comparison between medians and establishment of cut-off point by ROC curve.

**Results:** MDW was superior in infection vs. controls, the difference being greater for Influenza-A. For this virus the AUC was 0.82. We propose 20.75 (sensitivity: 92 %, specificity: 65 %) as the cut-off point for diagnostic exclusion.

**Conclusion:** MDW is elevated in the viral infections studied.

**INTRODUCCIÓN**

El hemograma es una de las pruebas de laboratorio más solicitadas. Aporta una información útil para la orientación diagnóstica tanto de enfermedades hematológicas como no hematológicas.

Se basa en la obtención del recuento celular sanguíneo (CBC, *Cell Blood Count*) y del diferencial leucocitario. El CBC incluye el recuento de leucocitos, de eritrocitos y de plaquetas y de la concentración de hemoglobina, mientras que el diferencial permite la identificación de las 5 subpoblaciones leucocitarias (neutrófilos, linfocitos, monocitos, basófilos y eosinófilos).

El avance tecnológico ha permitido el desarrollo de nuevas magnitudes celulares denominadas *cell population data* (CPD). Se trata de datos numéricos que definen características cualitativas de diferentes poblaciones celulares. Utilizan la tecnología VCS, que combina tres principios físicos: la impedancia eléctrica para la determinación del volumen (V), un sondeo electromagnético para obtener la conductividad (C) y la dispersión de la luz láser (S) en 5 ángulos para obtener la complejidad, proporcionando una media y una desviación estándar para cada población analizada. Esta tecnología se encuentra integrada en los analizadores hematológicos DxH series de Beckman Coulter. Los CPD reflejan específicamente variaciones en la morfología de las células sanguíneas como respuesta a diversas situaciones clínicas. Uno de los mejor estudiados es el relacionado con el tamaño de los monocitos, el MDW (*Monocyte Distribution Width*), pero hay otros que reflejan cambios en otros tipos celulares (1).

El MDW se define como amplitud de distribución de los monocitos; corresponde a la desviación estándar del tamaño medio de la población de monocitos.

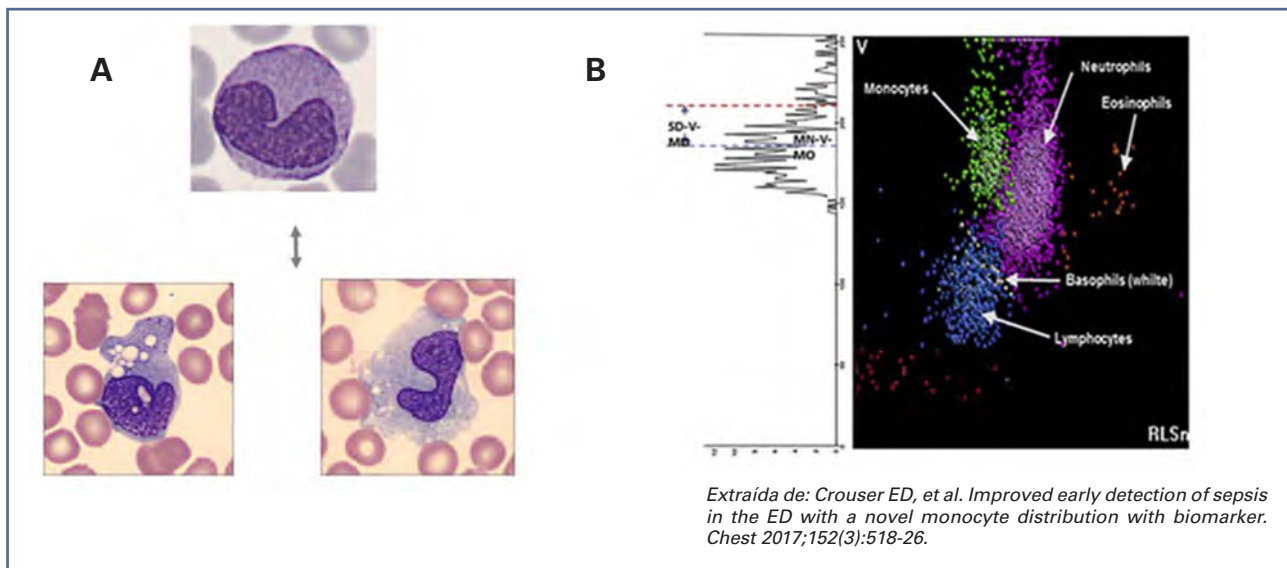
No presenta unidades de medida y se obtiene con el hemograma de forma automática. Refleja la heterogeneidad de los monocitos como respuesta a diversos procesos infecciosos o inflamatorios (1,2). En estos procesos, los monocitos se activan alterando su morfología, lo que puede observarse en el frotis. En la figura 1A puede diferenciarse un monocito en estado basal de los otros dos monocitos reactivos a un proceso infeccioso con mayor tamaño, irregularidad citoplasmática y presencia de vacuolas. Esta variación del tamaño poblacional también es posible visualizarla en el gráfico de dispersión, o escatergrama del diferencial leucocitario (Fig. 1B), que muestran los autoanalizadores DxH de Beckman Coulter.

El MDW ya se conoce bien como un marcador temprano de sepsis (2), pero recientemente ha comenzado a estudiarse su valor en el SARS-CoV-2 (3-6), ya que consiste en una infección con respuesta inflamatoria severa. Sin embargo, hay poca bibliografía de su papel en otras infecciones víricas (6), por lo que su estudio resulta interesante.

Así, el objetivo principal del trabajo ha sido analizar el valor del MDW en distintas infecciones víricas respiratorias: influenza A, virus respiratorio sincitial (VRS) y SARS-CoV-2, estudiando las diferencias entre los distintos grupos. Como objetivo secundario, se propone un punto de corte del MDW para diferenciar pacientes con infección vírica.

**MATERIAL Y MÉTODOS**

Análisis retrospectivo del valor del MDW de peticiones urgentes durante 4 meses (de enero a abril de 2022), escogiendo como cohorte 10 144 pacientes testados mediante prueba PCR para influenza A, VRS y SARS-CoV-2.



**Figura 1** – A. Imágenes de monocitos en sangre periférica. Arriba, un monocito en estado basal, y abajo, otros dos monocitos reactivos a un proceso infeccioso. Estos monocitos activados se presentan con mayor tamaño, irregularidad citoplasmática y presencia de vacuolas. B. Gráfico de dispersión o escatergrama del diferencial leucocitario. Se representan las distintas poblaciones leucocitarias. La nube verde es la que corresponde a la población de monocitos. En el gráfico, el eje Y representa el volumen celular (V), medido por impedancia, y el eje X, la complejidad celular (RLSn), medida mediante la dispersión de luz láser. Los algoritmos del analizador permiten representar el volumen mediante una curva de distribución (izquierda), y con ello, calcular la desviación estándar del tamaño medio de los monocitos (SD-V-MO), asignando un valor numérico a esta dispersión visual del volumen.

La determinación del MDW se realizó, junto con el hemograma, en sangre total con anticoagulante EDTA-K2 utilizando el analizador DxH900 (Beckman Coulter). La exportación de datos se realizó utilizando el datawarehouse Omnium (Roche Diagnostics), con lo que se obtuvieron los resultados del MDW junto con el resultado de la PCR para el diagnóstico del virus realizado el mismo día del hemograma.

El estudio estadístico se realizó mediante el *software* MedCalc (v.11.4.2.0). Se calculó la mediana y el rango intercuartílico del MDW en cada grupo. Para determinar la significación de la diferencia entre medianas del grupo total del virus frente al control se empleó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney (nivel de significación: 0,05) tras comprobar que la muestra seguía una distribución no paramétrica. Para calcular la significación entre cada grupo, virus individuales frente al control y entre virus, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis junto con el test *post hoc* de Conover (nivel de significación: 0,05).

Se realizó estudio de curvas ROC determinando el área bajo la curva (AUC) para valorar el mejor punto de corte.

## RESULTADOS

De las 10144 muestras estudiadas, 120 eran positivas para influenza A; 38, para VRS; 947, para SARS-CoV-2 y el resto eran negativas y constituían el grupo control. Los resultados de la mediana del MDW arrojan unos

valores más elevados en los virus respecto al control. El influenza A es el que presenta unos valores superiores (Tabla I).

Factor	n	Mediana MDW (RIC)
Influenza A	120	24,45 (22,19-26,12)
VRS	38	22,41 (21,36-23,95)
SARS-CoV-2	947	21,24 (18,53-24,27)
Total virus	1105	21,84 (18,83 – 24,71)
Control	9044	19,24 (17,30-22,16)
Total	10144	

RIC: rango intercuartílico; VRS: virus respiratorio sincitial.

La diferencia de medianas del MDW de cada grupo de virus frente al control y del grupo total de virus frente al control se recogen en la tabla II, que resultaron estadísticamente significativas. Se encontraron diferencias entre cada grupo estudiado.

En el análisis mediante curvas ROC en la infección por influenza A (Fig. 2), el AUC fue de 0,82. Estableciendo como punto de corte un valor de MDW de 20,75, se obtiene una sensibilidad del 92,5 % y una especificidad

Tabla II. Diferencia de medianas de cada grupo de virus y del grupo total de virus frente al control, junto con el valor de significación		
	Diferencia de medianas frente a control	Nivel de significación
Influenza A	5,41	$p < 0,0001$
VRS	3,17	$p < 0,0001$
SARS-CoV-2	2	$p < 0,0001$
Total virus	2,6	$p < 0,0001$

VRS: virus respiratorio sincitial.

del 65 % para su diagnóstico. Comparativamente con las curvas ROC del SARS-CoV-2, del VRS y del grupo total de virus (Fig. 2), se observa que el grupo influenza A presenta un AUC bastante superior que el resto de grupos analizados.

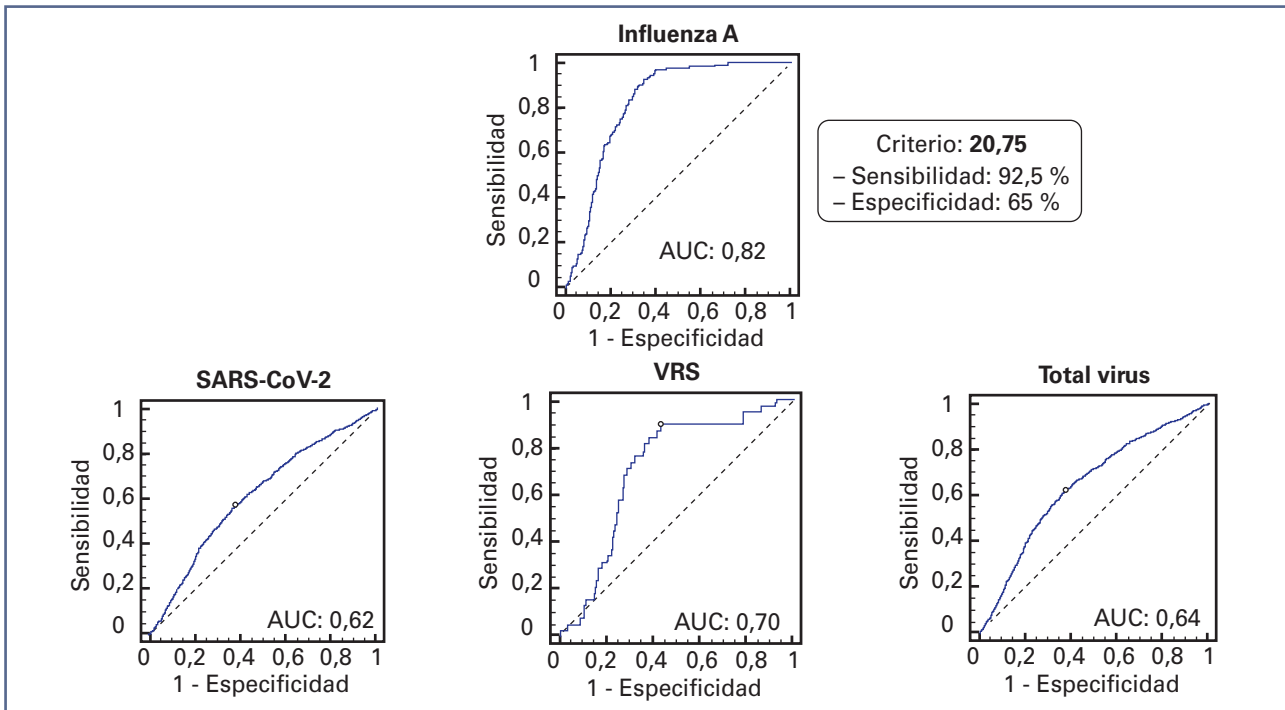
## DISCUSIÓN

El MDW se encuentra clínicamente aprobado para la identificación de pacientes sépticos o en riesgo de desarrollar sepsis. Actualmente tiene el marcado CE y está aprobado por la FDA para su publicación (7). Apor-

ta la ventaja de obtenerse junto con el hemograma sin necesidad de realizar pruebas adicionales, aunque requiere de controles propios de calidad.

En este trabajo se ha observado que, además, el MDW se eleva significativamente en infecciones virales, de forma más acusada en el influenza A, probablemente por tratarse de pacientes con mayor respuesta inflamatoria y, por tanto, mayor activación monocítica. De este modo, se propone un valor de MDW de 20,75 como punto de corte para la exclusión diagnóstica de infecciones por influenza A.

Como limitaciones del estudio, se trata de una recogida de datos acotada en un periodo de 4 meses, aunque con una cohorte de pacientes extensa y con resultados semejantes a otros descritos en la literatura (6). La activación monocítica va a depender de la respuesta frente a la agresividad del virus, que puede ser diferente en cada estación epidemiológica. De este modo, ya se ha reportado en un estudio que, durante la primera ola del SARS-CoV-2, la mediana del MDW era superior a la encontrada en este trabajo (25,4 frente a 21,24) (5). Puede explicarse porque la virulencia del SARS-CoV-2 en 2020 era superior que en 2022. En nuestra cohorte es este grupo de influenza A el que presenta los valores de MDW más elevados, lo que hace pensar que este parámetro puede modificarse según la agresividad de los virus. Estos hechos nos plantean nuevos estudios en los que podamos correlacionar el MDW con la gravedad y el pronóstico de los pacientes.



**Figura 2** – Arriba, análisis mediante curva ROC del valor del MDW en el virus influenza A junto con la sensibilidad y la especificidad asociadas al punto establecido de corte. Abajo, análisis comparativo de curvas ROC en SARS-CoV-2, en virus respiratorio sincitial (VRS) y en el grupo total de virus, que presentan inferiores áreas bajo la curva (AUC).

Otra de las limitaciones del estudio es que se realizó sin hacer distinción por grupos de edad o sexo, lo que podría ser un factor de variabilidad del MDW dentro de estos grupos.

En resumen, el MDW es un parámetro muy informativo, fácil de obtener y que aporta un valor extra para la interpretación analítica. Presenta un gran potencial como test de cribado en infecciones víricas graves, ya que permite una rápida identificación de estos pacientes con el fin de poder seleccionarlos y aplicar medidas precoces de apoyo. Se requieren más estudios en otras infecciones y junto a otros parámetros que aumenten su especificidad.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Hausfater P, Robert Boter N, Morales Indiano C, Cancellata de Abreu M, Mendoza Marin A, Pernet J, et al. Monocyte distribution width (MDW) performance as an early sepsis indicator in the emergency department: comparison with CRP and procalcitonin in a multicenter international European prospective study. *Crit Care* 2021;25(1):227. DOI: 10.1186/s13054-021-03622-5
2. Crouser ED, Parrillo JE, Seymour C, Angus DC, Bicking K, Tejedor L, et al. Improved early detection of sepsis in the ED with a novel monocyte distribution width biomarker. *Chest* 2017;152(3):518-26. DOI: 10.1016/j.chest.2017.05.039
3. Ognibenea A, Lorubbio M, Magliocca P, Tripodo E, Vaggelli G, Iannelli G. Elevated monocyte distribution width in COVID-19 patients: The contribution of the novel sepsis indicator. *Clin Chim Acta* 2020;509:22-4. DOI: 10.1016/j.cca.2020.06.002.
4. Zeng X, Xing H, Wei Y, Tang Z, Lu X, Wang Z, et al. Monocyte volumetric parameters and lymph index are increased in SARS-CoV-2 infection. *Int J Lab Hematol* 2020;42(6):e266-9.
5. Gómez-Rojas S. Valor del monocyte distribution width (MDW) en el diagnóstico de infecciones víricas. *Congreso Nacional de Hematología y Hemoterapia (SEHH)*; 2022.
6. Badaki-Makun O, Levin S, Debraine A, Hernried B, Malinowska A, Smith A, et al. Monocyte Distribution Width as a Pragmatic Diagnostic Screen for SARS-CoV-2 and Influenza Infection. *Sci Rep* 2022;12:21528. DOI: 10.1038/s41598-022-24978-w
7. U.S. Food and Drug Administration (FDA) [consultado: abril de 2023]. Disponible en: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfpmn/pmn.cfm?id=K181599>



## Revisión

# Estudio de la talasemia $\beta$ en el Laboratorio Clínico: estrategias diagnósticas

## *Study of beta thalassemia in the Clinical Laboratory: diagnostic strategies*

*Herminio López-Escribano, Arancha Martí Martínez*

Laboratorio de Bioquímica y Patología Molecular. Hospital Clínico Universitario de Valencia. Valencia

**Recibido:** 04/08/2023  
**Aceptado:** 09/08/2023

**Correspondencia:** Herminio López-Escribano. Laboratorio de Bioquímica y Patología Molecular. Hospital Clínico Universitario de Valencia. Avda. Blasco Ibáñez, 17. 46010 Valencia  
e-mail: escribanox@yahoo.es

### Palabras clave:

Talasemia  $\beta$ . Test genéticos moleculares.  
Consejo genético. Diagnóstico prenatal.  
Terapia génica.

### RESUMEN

Las talasemias  $\beta$  son trastornos sanguíneos hereditarios caracterizados por anomalías en la síntesis de las cadenas beta de la hemoglobina, lo que da lugar a fenotipos variables, desde anemia severa hasta individuos asintomáticos. La incidencia anual de casos sintomáticos se estima en 1 de cada 100 000 personas en el mundo y en 1 de cada 10 000 en la Unión Europea. Se reconocen tres formas principales: talasemia mayor, talasemia intermedia y talasemia menor. Los individuos con talasemia mayor generalmente desarrollan anemia severa antes de los dos años, lo que requiere transfusiones regulares. Los pacientes con talasemia intermedia manifiestan anemia moderada más tardía y no suelen requerir transfusiones. La talasemia  $\beta$  se ocasiona por mutaciones puntuales o, en casos menos comunes, deleciones en el gen de la globina beta en el cromosoma 11, lo que resulta en una síntesis reducida o ausente de las cadenas beta de la hemoglobina. La transmisión es de tipo autosómico recesivo, aunque también se han detectado mutaciones dominantes. El diagnóstico se basa en pruebas hematológicas y genéticas. Se recomienda el asesoramiento genético y la posibilidad de diagnóstico prenatal. El tratamiento de la talasemia mayor incluye transfusiones regulares, quelación de hierro y el manejo de complicaciones secundarias. Aunque el trasplante de médula ósea sigue siendo la única cura definitiva disponible, los avances

*Conflicto de interés:* los autores declaran no tener conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00194

López-Escribano H, Martí Martínez A. Estudio de la talasemia  $\beta$  en el Laboratorio Clínico: estrategias diagnósticas.  
Rev Med Lab 2023;4(2):53-63

en la caracterización del gen de la globina beta y el uso de terapia génica mediante trasplante autólogo de células madre hematopoyéticas están permitiendo avances en nuevas terapias transformadoras.

### Keywords:

Beta thalassemia. Molecular genetic testing. Genetic counselling. Prenatal diagnosis. Gene therapy.

### ABSTRACT

Beta-thalassemia are a group of hereditary blood disorders characterized by anomalies in the synthesis of beta chains of hemoglobin resulting in variable phenotypes ranging from severe anemia to clinically asymptomatic individuals. The total annual incidence of symptomatic individuals is estimated at 1 in 100,000 throughout the world and 1 in 10,000 people in the European Union. Three main forms have been described: thalassemia major, thalassemia intermedia and thalassemia minor. Individuals with thalassemia major usually present within the first two years of life with severe anemia, requiring regular red blood cell transfusions. Patients with thalassemia intermedia present later in life with moderate anemia and do not require regular transfusions. Beta-thalassemia are caused by point mutations or, more rarely, deletions in the beta globin gene on chromosome 11, leading to reduced or absent synthesis of the beta chains hemoglobin. Transmission is autosomal recessive; however, dominant mutations have also been reported. Diagnosis of thalassemia is based on hematologic and molecular genetic testing. Genetic counseling is recommended, and prenatal diagnosis may be offered. Treatment of thalassemia major includes regular red blood cell transfusions, iron chelation and management of secondary complications. Bone marrow transplantation remains the only definitive cure currently available. Extensive characterization of the beta globin gene locus, accompanied by pioneering work on the utilization of viruses as human gene delivery tools in human hematopoietic stem and progenitor cells, has led to transformative and successful therapies via autologous hematopoietic stem-cell transplant with gene therapy.

### INTRODUCCIÓN

Las talasemias son un conjunto de trastornos hereditarios recesivos caracterizados por una disminución o ausencia de la producción de hemoglobina (Hb), lo que conduce a una anemia crónica de gravedad variable (1). Constituyen los trastornos monogénicos más comunes en todo el mundo (2) y se clasifican como talasemia  $\alpha$  ( $\alpha$ -tal) o talasemia  $\beta$  ( $\beta$ -tal) (3), según las cadenas de globina que se encuentran afectadas dentro del tetrámero de la Hb (1), formado por dos pares de cadena de globina junto a un grupo hemo unido a cada una de estas.

Los diferentes tipos de Hb dependen de la combinación de los tipos de cadenas de globina, cuya expresión varía a lo largo del tiempo según las distintas etapas del desarrollo. Más del 95 % de la Hb presente en el adulto y en niños mayores de 1 año es HbA y está formada por dos cadenas alfa ( $\alpha$ ) y dos cadenas beta ( $\beta$ ) ( $\alpha_2\beta_2$ ). Los adultos tienen de un 2 a un 3,5 % de HbA<sub>2</sub>, la cual está compuesta por dos cadenas  $\alpha$  y dos cadenas

delta ( $\delta$ ) ( $\alpha_2\delta_2$ ). En cuanto a la Hb fetal (HbF), esta posee dos cadenas  $\alpha$  y dos cadenas gamma ( $\gamma$ ) ( $\alpha_2\gamma_2$ ); en el recién nacido constituye entre el 70 y el 90 % de la Hb total. Sin embargo, su concentración disminuye al 2-3 % alrededor del sexto mes de vida, lo que constituye en la vida adulta una cantidad que no supera el 1 % (4).

En relación a la  $\beta$ -tal, esta se ha distribuido ampliamente por todo el mundo. Más del 90 % de los pacientes afectados se encuentran en regiones que se extienden desde África hasta el sur de Europa y desde el Oriente Medio hacia el sudeste asiático (1).

Aunque los avances en el cuidado médico han mejorado la esperanza de vida de los pacientes, la  $\beta$ -tal sigue siendo un desafío en términos de prevención y manejo, especialmente en regiones con recursos limitados (1). El tratamiento de las personas afectadas supone una carga global considerable en términos de enfermedad. La identificación de portadores y el cribado prenatal son procedimientos valiosos que permiten identificar a las parejas con riesgo de tener hijos afectados para así ofrecerles opciones de tener descendencia sana (2).

## GENÉTICA Y DISTRIBUCIÓN DE MUTACIONES. ASOCIACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO

### Genética y mutaciones en la $\beta$ -tal

El conjunto de genes de la  $\beta$ -globina (clúster beta), que abarca una región de 70 kb, está compuesto por cinco genes: un gen para la cadena  $\epsilon$ , que forma parte de las hemoglobinas embrionarias Gower 1 y 2 (gen *HBE*); dos genes para la cadena  $\gamma$ , que forma parte de la Hb F (genes *HBG2* y *HBG1*); un gen para la cadena  $\delta$ , que forma parte de la HbA<sub>2</sub> (gen *HBD*), y un gen para la cadena  $\beta$ , que forma parte de la HbA (gen *HBB*) (Fig. 1). Estos genes se localizan en el brazo corto del cromosoma 11 en el siguiente orden dentro del clúster: 5'—HBE—HBG2—HBG1—HBD—HBB—3'. Además, encontramos un elemento regulador distal, conocido como LCR, que desempeña un papel importante en la regulación de la expresión de todos los genes del conjunto. La  $\beta$ -tal se caracteriza por un defecto cuantitativo en la síntesis de las cadenas de globina  $\beta$  subyacente a una marcada heterogeneidad genotípica de las mutaciones del gen (5).

Se han descrito hasta 350 mutaciones de  $\beta$ -tal que dan como resultado la sustitución de un nucleótido, pequeñas deleciones o inserciones dentro del gen de la globina  $\beta$  o en su secuencia flanqueante inmediata (región intrón/exón). Las grandes deleciones que implican al gen *HBB* o a varios genes del clúster son mucho menos frecuentes (a excepción de la deleción de 619 pares de bases, que es muy frecuente en los grupos étnicos punyabíes y sindhis de regiones de la India y de Pakistán). A cada tipo de mutación se le asigna un índice de gravedad, que es  $\beta^+$  cuando se encuentra asociado a mutaciones que causan una reducción relativa de la síntesis de la cadena de globina  $\beta$  (con distinta severidad:  $\beta^+$  severas,  $\beta^+$  leves o  $\beta^+$  silentes) y  $\beta^0$ , que se refiere a mutaciones severas que pueden conducir a una ausencia completa de la cadena de globina  $\beta$  (1).

### Distribución de mutaciones

La distribución de mutaciones y la prevalencia de portadores de talasemia son bastante conocidas. Se encuentran principalmente en regiones tropicales y subtropicales. Con relación a la  $\beta$ -tal, los alelos de talasemia  $\beta^0$  ( $\beta^0$ -tal) son los más comunes debido a mu-

taciones sin sentido o a desplazamientos del marco de lectura, que provocan la terminación prematura de la traducción. Algunas mutaciones son muy comunes, mientras que otras tienen frecuencias muy bajas. Estudios poblacionales han demostrado que solo unos 20 alelos de  $\beta$ -tal representan alrededor de 80 % de sus mutaciones y cada población en áreas de alta prevalencia tiene su propio espectro único de mutaciones (normalmente entre 4 y 10 mutaciones). Por tanto, es importante conocer el espectro mutacional de cada región o área para realizar un estudio dirigido más coste-efectivo, aunque los fenómenos migratorios actuales aumentan la diversidad de mutaciones que podemos encontrarnos (de ahí la importancia de conocer el origen étnico del individuo a estudiar) (6).

En concreto, en la región del Mediterráneo las mutaciones más comúnmente distribuidas son: Cd39 (C>T), IVSI-110 (G>A), IVSI-6 (C>T), IVSI-I (G>A), IVSII-1 (G>A) y Cd8 (-AA). En cambio, en regiones asiáticas nos encontramos diferentes mutaciones, como (7-9):

- La India y Pakistán: -619 bp del, IVSI-5 (G>T), Cd8/9 (+G), Cd41/42 (-TCTT) y IVSI-I (G>T).
- Asia oriental y sudeste asiático: Cd41/42 (-TCTT), Cd17 (A>T), -28(A>G) y IVSII-654 (C>T).
- Indonesia: IVSI-5 (G>T), IVSII-654 (C>T), IVSI-I (G>T) y Cd15 (G>A).

### Asociación genotipo-fenotipo

La heterogeneidad clínica de la  $\beta$ -tal es amplia, va desde la  $\beta$ -tal mayor que se caracteriza por una anemia severa a partir de los primeros años de vida, y se considera una enfermedad grave con requerimientos transfusionales, a formas leves, generalmente heterocigotos, con una discreta anemia microcítica e hipocromía, sin manifestaciones clínicas evidentes, conocidas como  $\beta$ -tal menor. Además, podemos encontrarnos con formas intermedias ( $\beta$ -tal intermedia) en pacientes con anemia no tan severa, como en las formas más graves, que no suelen requerir transfusiones (10).

Por tanto, atendiendo al fenotipo clínico, podemos clasificar las  $\beta$ -tal en:

- $\beta$ -tal menor o rasgo talasémico: es el resultado de la herencia heterocigota de una mutación de  $\beta$ -tal, ya sea una mutación  $\beta^0$  o  $\beta^+$  (1). Es clínicamente asintomática y se caracteriza por una disminución

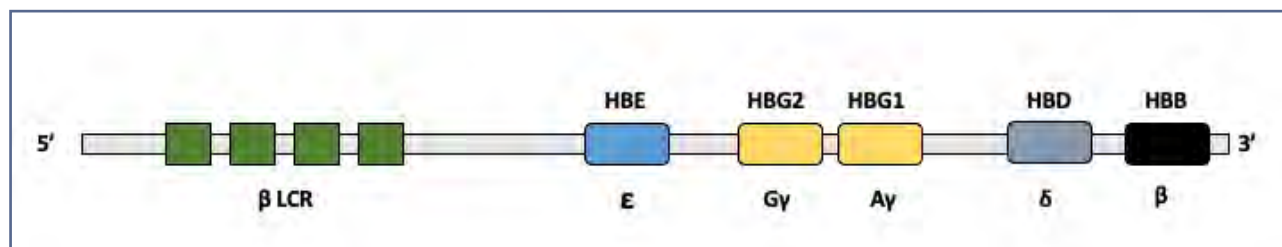


Figura 1 – Clúster de genes de la globina  $\beta$ .



de los índices eritrocitarios, como el volumen corpuscular medio (VCM) y la hemoglobina corpuscular media (HCM), y por el incremento del número de hematíes (RBC) (3).

- *β-tal intermedia*: numerosas alteraciones moleculares pueden dar lugar a este fenotipo clínico. Aunque el diagnóstico sigue siendo en gran parte clínico, se ha descrito una asociación genotipo/fenotipo, de modo que la base genética de la diversidad fenotípica vendría determinada por moduladores genéticos (10).

El espectro clínico de la *β-tal intermedia* es muy amplio, así como el fenotipo hematológico. La anemia (los niveles de Hb suelen variar entre 7 y 10 g/dL) es el primer signo de sospecha y en los pacientes con *β-tal intermedia* puede ser de moderada a leve, con una producción de hematíes adecuada para mantener niveles de Hb superiores a 7 g/dL y no requerir transfusiones de forma regular. Respecto a los moduladores genéticos que podemos encontrar en la *β-tal intermedia*, hay diferentes genotipos asociados a *β-tal intermedia*:

- *Homocigotos o heterocigotos compuestos para β-tal*: la amplia diversidad de mutaciones que afectan al gen *HBB* puede producir un fenotipo clínico menos severo (sobre todo si una de las mutaciones o ambas son  $\beta^+$  no severas, mutaciones que afecten al promotor del gen, etc.). Estas mutaciones causan una ligera reducción en la producción de la cadena de globina  $\beta$ .
- *Portadores de mutaciones dominantes*: con menor frecuencia se observa la afectación de un solo locus del gen *HBB*; el otro es completamente normal. Son mutaciones que suelen provocar alteraciones en los últimos codones del gen, lo que incita un cambio de pauta de lectura que va a dar lugar a la elongación de la cadena, lo que genera una hemoglobina hiperinestable. Esta inestabilidad provoca la lisis del hematíe y da lugar al fenotipo clínico de *β-tal intermedia*, a pesar de que la mutación se encuentre en heterocigosis.
- *Sobreexpresión de las cadenas globina  $\gamma$* : la homocigosidad o doble heterocigosidad, junto a una sobreexpresión de cadenas  $\gamma$ , ya sea porque uno de los alelos o ambos corresponden a una talasemia  $\delta\beta$  ( $\delta\beta$ -tal) o porque se asocian a otras alteraciones moleculares en el mismo locus o en otro diferente, como en el síndrome de la persistencia hereditaria de hemoglobina fetal (HPHF), o polimorfismos en el promotor del gen  $\gamma$  (*HBG1* o *HBG2*), que van a provocar un incremento de Hb F. Este aumento produce una disminución de la severidad clínica, lo que da lugar a un fenotipo de *β-tal intermedia*.
- *Incremento de producción de cadenas globina  $\alpha$* : el aumento de cadenas  $\alpha$  por una triplicación o cuadruplicación de genes  $\alpha$  ( $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha$  o  $\alpha\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha$ ), asociado a una *β-tal heterocigota*, provoca un fenotipo clínico de *β-tal intermedia* debido al exceso de cadenas  $\alpha$  que, además de la disminución

de cadenas  $\beta$  producida por la *β-tal* en heterocigosis, provocan la hemólisis del hematíe debido al exceso de cadenas  $\alpha$  libres.

- *β-tal mayor o anemia de Cooley*: se presenta en pacientes homocigotos o heterocigotos compuestos para mutaciones severas de *β-tal*. Se caracteriza por debutar con una anemia temprana (entre los 6 y 24 meses) que requiere transfusiones sanguíneas. Los pacientes con *β-tal mayor* no tratada o transfundida inadecuadamente sufren numerosas complicaciones, como retraso del crecimiento, hepatoesplenomegalia, hematopoyesis extramedular y anomalías esqueléticas como resultado de la expansión de la médula ósea. A pesar de ello, las transfusiones de sangre continuas provocan un exceso de hierro sanguíneo que conlleva daño a nivel orgánico grave e irreversible. Por estos motivos, la causa más común de muerte en pacientes con *β-tal mayor* son problemas cardiovasculares asociados a la anemia severa o por sobrecarga de hierro debida a las transfusiones continuas, seguida de un incremento de riesgo de infecciones (3).

## EPIDEMIOLOGÍA DE LA TALASEMIA $\beta$

La prevalencia de la *β-tal* ha sido históricamente más alta en el Mediterráneo, en Oriente Medio y en el sudeste asiático (11) debido a la asociación evolutiva con la resistencia a la malaria (1). Sin embargo, debido a los fenómenos migratorios, los datos de prevalencia de *β-tal* están incrementándose comúnmente en regiones no endémicas como Europa oriental y América del Norte (11).

A nivel mundial, aproximadamente el 1,5 % de la población (de 80 a 90 millones de personas) es portador de *β-tal*. Cada año, se registran alrededor de 40 000 nacimientos de niños afectados de *β-tal* y aproximadamente la mitad de ellos requiere transfusiones sanguíneas (11).

Las tasas de portadores varían en función de las diferentes regiones geográficas. En Asia, oscila según las zonas: 4,6 % en Pakistán, 3,9 % en la India, 1-8 % en China (muy variable según regiones) o entre el 3 y el 9 % en Tailandia (12). En el Oriente Medio, la prevalencia es alta debido a la consanguinidad en los matrimonios, aunque los programas de prevención han logrado reducirla en las últimas décadas (11). En el Mediterráneo, Chipre tiene unos datos estimados de portadores de *β-tal* de entre un 12 y un 15 %, lo que la convierte en una de las regiones con mayor prevalencia a nivel mundial. Las cifras en otros países del Mediterráneo varían desde un 7-8 % en Grecia, un 4,3 % en Italia (aunque hay regiones del país con prevalencias superiores a la media, como Cerdeña, con un 10,3 %, y Sicilia, con un 6 %) o un 2,1 % en Turquía. En relación con España, los datos estimados indican un 1,6 % de portadores de *β-tal* (12).

Como se ha indicado, en algunos países europeos la *β-tal* está aumentando debido a la migración y a los movimientos de refugiados provenientes de zonas de conflicto, así como a un incremento en las tasas de adopción (1).

Por otro lado, las estrategias de prevención tomadas, que incluyen programas de educación de salud pública, consejo genético y cribado poblacional, han permitido disminuir la incidencia de  $\beta$ -tal en países europeos endémicos y en países que reciben población de zonas endémicas del resto del mundo. Además, las tasas de supervivencia han mejorado debido a los avances en el tratamiento con transfusiones sanguíneas, a la monitorización y al control de la sobrecarga de hierro. Esto ha provocado que la  $\beta$ -tal pase de considerarse una enfermedad pediátrica con esperanza de vida corta a una enfermedad crónica con una supervivencia prolongada (11).

## ESTUDIO DE PORTADORES

Las hemoglobinopatías constituyen una de las alteraciones monogénicas recesivas con mayor distribución a nivel mundial. Estas se producen por variantes que afectan directamente a la síntesis de las cadenas

de globina de la Hb (síndromes talasémicos) o a cambios estructurales que afectan a las propiedades físico-químicas de esta (por ejemplo, la HbS).

Si nos centramos en la  $\beta$ -tal o en su combinación con hemoglobinopatías estructurales que afecten a la cadena de la  $\beta$ -globina, debemos incidir en la identificación de portadores en los que la interacción de distintas alteraciones dé lugar a fenotipos clínicos severos. En estos casos, el cribado neonatal, el diagnóstico prenatal/preimplantacional o el consejo genético están indicados en aquellas parejas portadoras de los desórdenes, según la guía de buena práctica clínica publicada en 2015 por la European Molecular Genetics Quality Network (EMQN) (2). Esta guía es complementaria a las recomendaciones de la British Society for Haematology (BSH) (13) y a las de la European Network for Rare and Congenital Anaemias (ENERCA) (14). Por tanto, el objetivo es prevenir las siguientes combinaciones en el genotipo que darían lugar a fenotipos clínicos severos (Tablas I y II):

Tabla I.

Interacciones entre variantes talasémicas  $\beta$  y otros desórdenes en el gen de la globina  $\beta$ , fenotipo clínico y recomendaciones de diagnóstico prenatal / preimplantacional

Interacción genética	Fenotipo esperado	Indicación de diagnóstico prenatal / preimplantacional
<b>Homocigoto</b>		
$\beta^0$ o $\beta^{+}$ (severa) -tal	Talasemia mayor	Sí
$\beta^{+}$ (leve)-tal	Talasemia intermedia	Ocasionalmente*
$\beta^{++}$ (silente)-tal	Talasemia intermedia muy leve	No
$\delta\beta^0$ -tal	Talasemia intermedia	Ocasionalmente*
Hb Lepore	Talasemia intermedia a talasemia mayor (variable)	Ocasionalmente*
HPFH	Sin relevancia clínica	No
Hb C	Sin relevancia clínica	No
Hb D-Punjab	Sin relevancia clínica	No
Hb E	Sin relevancia clínica	No
Hb O-Arab	Sin relevancia clínica	No
<b>Heterocigoto compuesto</b>		
$\beta^0$ / $\beta^{+}$ (severa) -tal	Talasemia mayor	Sí
$\beta^{+}$ (leve) / $\beta^0$ o $\beta^{+}$ (severa)-tal	Talasemia intermedia a talasemia mayor (variable)	Ocasionalmente*
$\beta^{++}$ (silente) / $\beta^0$ o $\beta^{+}$ (severa)-tal	Talasemia intermedia leve (variable)	Ocasionalmente*
$\delta\beta^0$ / $\beta^0$ o $\beta^{+}$ (severa)-tal	Talasemia intermedia a talasemia mayor (variable)	Ocasionalmente*
$\delta\beta^0$ / $\beta^{+}$ (leve)-tal	Talasemia intermedia leve	Ocasionalmente*
$\delta\beta^0$ / Hb Lepore	Talasemia intermedia	Ocasionalmente*
Hb Lepore/ $\beta^0$ o $\beta^{+}$ (severa)-tal	Talasemia mayor	Sí
Hb C/ $\beta^0$ o $\beta^{+}$ (leve)-tal	Rasgo $\beta$ -talasémico a talasemia intermedia (variable)	Ocasionalmente*
Hb C/ $\beta^{+}$ (leve)-tal	Sin relevancia clínica	No
Hb D-Punjab/ $\beta^0$ o $\beta^{+}$ (severa)-tal	Sin relevancia clínica	No
Hb E/ $\beta^0$ o $\beta^{+}$ (severa) -tal	Talasemia intermedia a talasemia mayor (variables)	Sí
Hb O-Arab/ $\beta^0$ -tal	Talasemia intermedia grave	Sí
$\alpha\alpha\alpha$ / $\beta^0$ o $\beta^{+}$ (severa)-tal	Talasemia intermedia leve	No
$\alpha\alpha\alpha\alpha$ / $\beta^0$ y $\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha$ / $\beta^0$ -tal	Talasemia intermedia leve a grave (variable)	Ocasionalmente*

\*Las parejas con genotipos que podrían dar lugar a descendencia con fenotipos impredecibles ocasionalmente optan por realizar un diagnóstico prenatal o preimplantacional.

Nota: la decisión de realizar el diagnóstico prenatal corresponde a la pareja, una vez que hayan recibido asesoramiento integral.

**Tabla II.**  
**Interacciones de variantes estructurales  $\beta$  más frecuentes, fenotipo clínico y recomendaciones de diagnóstico prenatal / preimplantacional**

Interacción genética	Fenotipo esperado	Indicación de diagnóstico prenatal / preimplantacional
<b>Homocigoto</b>		
Hb S	Enfermedad de las células falciformes	Sí
<b>Heterocigoto compuesto</b>		
Hb S/ $\beta^0$ o $\beta^{+(severa)}$ -tal	Enfermedad de células falciformes	Sí
Hb S/ $\beta^{+(leve)}$ -tal	Enfermedad de células falciformes leve	Ocasionalmente*
Hb S/ $\delta\beta^0$ -talasemia	Enfermedad de células falciformes leve	Ocasionalmente*
Hb S/Hb Lepore	Enfermedad de células falciformes leve	Ocasionalmente*
Hb S/Hb C	Enfermedad de células falciformes (gravedad variable)	Sí
Hb S/Hb D-Punjab	Enfermedad de células falciformes	Sí
Hb S/Hb O-Arab	Enfermedad de células falciformes	Sí
Hb S/Hb C-Harlem, S-Southend, S-Antilles	Enfermedad de células falciformes	Sí
Hb C/Hb S-Antilles	Enfermedad de células falciformes	Sí
Hb S/Hb Quebec-Chori, Hb C-Ndjamena, Hb O-Tibesi	Enfermedad de células falciformes	Sí
Hb S/Hb I-Toulouse, Hb Shelby, Hb Hope, Hb North Shore	Anemia hemolítica	No
Hb S/Hb E	Enfermedad de células falciformes de leve a grave	Ocasionalmente*
Hb S/HPFH	Enfermedad de células falciformes muy leve	No

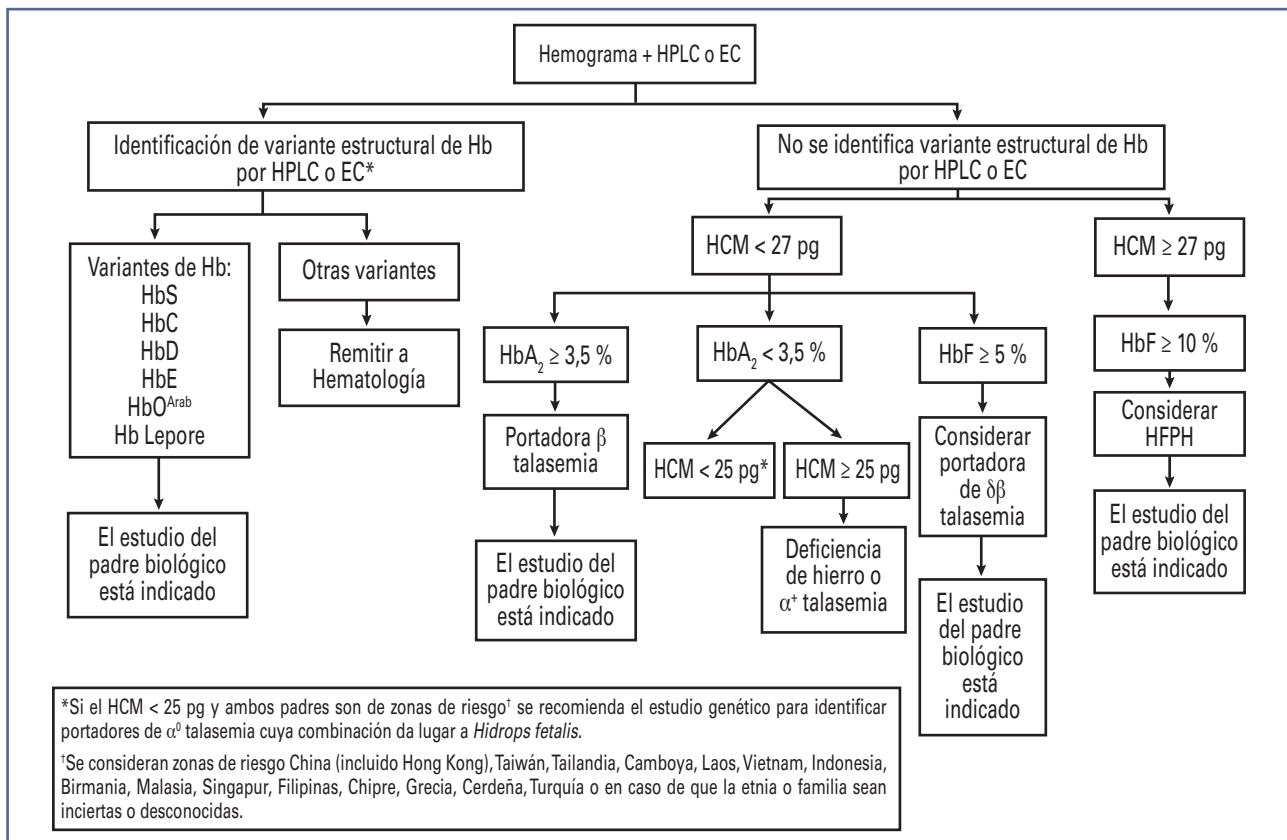
\*Las parejas con genotipos que podrían dar lugar a descendencia con fenotipos impredecibles ocasionalmente optan por realizar un diagnóstico prenatal o preimplantacional.

Nota: la decisión de realizar el diagnóstico prenatal corresponde a la pareja, una vez que hayan recibido asesoramiento integral.

- $\beta$ -tal mayor*: coherencia de dos variantes que afecten a los niveles de expresión de cadena  $\beta$ , incluyendo la  $\delta\beta$ -tal y Hb Lepore.
- Síndromes drepanocíticos*, ya sea Hb S en homocigosis (Hb S/ Hb S) o su combinación con otras variantes que afecten al gen beta como: Hb S/ Hb C, Hb S/  $\beta$ -tal, Hb S/ Hb D- Punjab, Hb S/ Hb O-Arab, Hb S/Hb Lepore o Hb S/ Hb E.
- Hb E talasemia*: coherencia de  $\beta$ -tal con Hb E.

El Laboratorio Clínico juega un papel fundamental en la detección de portadores de hemoglobinopatías, ya que es la única enfermedad genética en la que su detección inicial es posible con estudios hematológicos y bioquímicos. En muchos países de nuestro entorno hay programas de detección de parejas portadoras durante el embarazo (cribado antenatal) que siguen algoritmos muy dirigidos de decisión clínica. Un ejemplo es el programa de cribado realizado por el sistema de salud del Reino Unido (NHS) (15) a todas las gestantes (cribado de drepanocitosis y talasemia) (Fig. 2). En la primera visita para el control del embarazo, la matrona solicita un cribado de hemoglobinopatías que incluye

un hemograma, un estudio de hemoglobinas mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) o electroforesis capilar (EC), junto con un cuestionario en el que se indica el origen étnico de la gestante y la pareja (dato muy importante, ya que la prevalencia de portadores y la frecuencia de mutaciones varían según el origen étnico). Si se detecta una posible variante en la gestante, se solicita el estudio a la pareja (si está disponible), y si esta también es portadora de una alteración, debe procederse al estudio genético de ambos. Una vez conocido el genotipo de los portadores, se evalúan las distintas interacciones entre las variantes que afectan al gen *HBB* y sus implicaciones clínicas para derivar a estos casos a la consulta genética. Determinados genotipos provocan un fenotipo clínico severo en el que está indicado el diagnóstico prenatal. En cambio, hay combinaciones que producen un fenotipo clínico impredecible. Estos genotipos debe evaluarlos un equipo multidisciplinar que realice un estudio exhaustivo en busca de casos publicados con las mismas características para ofrecer las distintas opciones posibles a la pareja.



**Figura 2** – Algoritmo del Laboratorio Clínico en el estudio de hemoglobinopatías durante el cribado prenatal. Adaptado de: NHS Sickle Cell and Thalassaemia Screening Programme. Hand- book for Antenatal Laboratories 2017.

Por tanto, estos algoritmos (15) se basan en:

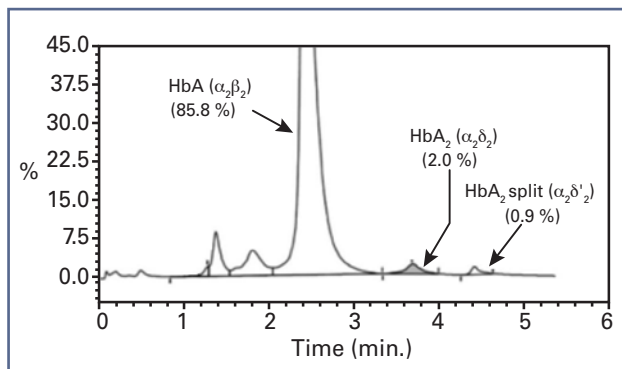
1. *Detección de portadores mediante técnicas hematológicas:*

- a) *Hemograma.* Mediante la realización de un hemograma, obtendremos parámetros eritrocitarios como el VCM, el HCM, el índice de distribución eritrocitaria (RDW) y la concentración de Hb y RBC. Valores en adultos de VCM < 79 fL y de HCM < 27 pg podrían indicar heterocigosidad para talasemia (siempre que se excluya microcitosis por anemia ferropénica) (Fig. 2). El RDW y el RBC pueden discriminar entre portadores de talasemia y deficiencia de hierro, ya que en los portadores de talasemia el RDW generalmente no se encuentra alterado, a diferencia de la que ocurre en la anemia ferropénica. En los portadores de talasemia, el RBC se incrementa normalmente a valores de  $6-7 \times 10^{12}/L$  como mecanismo compensador de la HCM disminuida crónica. Durante el embarazo, el RBC no es un buen parámetro, ya que puede sufrir el efecto de la hemodilución. Además, durante el tratamiento de la anemia ferropénica con hierro el RBC puede verse incrementado (2). Muestras analizadas pasadas 24 horas tras la extracción podrían presentar un falso incre-

mento del VCM, sobre todo si no se han mantenido refrigeradas, a diferencia del HCM, que es estable hasta 5 días a temperatura ambiente. Por tanto, los programas de cribado se basan principalmente en el HCM como principal indicador de microcitosis.

- b) *Análisis de hemoglobina y su cuantificación.* Se requieren técnicas analíticas capaces de identificar variantes estructurales que afecten a la cadena  $\beta$  (16). Al detectar una posible variante estructural, se recomiendan al menos dos métodos para la identificación de patrones de Hb. Estos métodos incluyen la electroforesis de Hb a pH 8,6 con membrana de acetato de celulosa, electroforesis de Hb a pH 6 con gel de agarosa, isoelectroenfoque, HPLC y EC. Los métodos HPLC y EC son los más utilizados por los Laboratorios Clínicos debido a su automatización y a una mayor capacidad de detectar y de cuantificar variantes estructurales, como las que afectan a la cadena  $\beta$  (Hb S, Hb C, Hb D-Punjab, Hb O-Arab, Hb E o Hb Lepore, entre otras). Además, son métodos que nos permiten cuantificar niveles de HbA, HbA<sub>2</sub> y HbF y así identificar portadores de  $\beta$ -tal,  $\delta\beta$ -tal o HPHF mediante el uso de algoritmos diagnósticos.

- **HbA<sub>2</sub>**. Niveles de HbA<sub>2</sub> ≥ 3,5 % e índices eritrocitarios como el HCM disminuido son compatibles con heterocigosidad para β-tal (Fig. 2). En los programas de cribado de portadores se asume que hay situaciones en las que los niveles de HbA<sub>2</sub> pueden encontrarse infraestimados o en las que el HCM esté alterado (incrementado) (16), lo que dificulta la detección de portadores de β-tal. Estas condiciones están bien caracterizadas. Las que afectan a los niveles de HbA<sub>2</sub> son las que mejor se conocen:
  - **Mutaciones silentes**. Son mutaciones que afectan a ciertas regiones del promotor, regiones intrónicas o regiones PolyA del gen β (con una mayor prevalencia en sujetos de origen mediterráneo). Algunas de estas mutaciones son: c.-50 A>C [CAP+1 (A>C)], c.92 + 6 T>C [IVSI-6 (T>C)], c.-151 C>T [-101 (C>T)], c.-142 C>T [-92 (C>T)], c. -18 C>G [+33 (C>G)], c. 316-7 C>G [IVS2-844 (C>G)], c.6 C>G [+1480 (C>G)], c.111 A>C o c.110 T>C [PolyA (A>G) o (T>C)]. Estas alteraciones producen niveles normales o límites de HbA<sub>2</sub> de entre 3,1 y 3,5 %, pero afortunadamente la gran mayoría provoca alteraciones de síntesis de tipo β<sup>+</sup> (15).
  - **Portadores de β-tal con anemia ferropénica severa**: la HbA<sub>2</sub> puede encontrarse infraestimada.
  - **Portadores de β-tal con deficiencia de vitamina B<sub>12</sub> o ácido fólico, enfermedad hepática o tratamiento VIH**: en los que puede producirse un incremento de los índices eritrocitarios, como el HCM.
  - **Portadores de β-tal con coexistencia de talasemia δ o una variante en δ o α**: al disminuir los niveles de cadena δ se forma una menor cantidad de tetrámero de HbA<sub>2</sub> (α<sub>2</sub>δ<sub>2</sub>) o se forman dos tetrámeros con distinto comportamiento fisicoquímico para su detección por los métodos analíticos, con lo que se obtiene la HbA<sub>2</sub> (α<sub>2</sub>δ<sub>2</sub>), que no contiene las variantes δ o α (denominada δ' o α')



**Figura 3** – Identificación de HbA<sub>2</sub> split (α<sub>2</sub>δ'<sub>2</sub>) por presencia de variante δ mediante HPLC.

y la HbA<sub>2</sub>' con la variante δ' o α' (α<sub>2</sub>δ'<sub>2</sub>; α'<sub>2</sub>δ<sub>2</sub>), denominada HbA<sub>2</sub> split (17) (Fig. 3).

- **Portadores de β-tal en los que coexista una alteración en genes alfa**. En la enfermedad de la Hb H, principalmente por delección de tres genes α cuyo genotipo corresponde con (–/–α). En estos casos, al disminuir la síntesis de cadenas α, la HbA<sub>2</sub> (α<sub>2</sub>δ<sub>2</sub>) se encontraría disminuida.
- **Portadores de talasemia εγδβ**. Delección muy infrecuente que afecta a gran parte del clúster β infraestimando la HbA<sub>2</sub> (α<sub>2</sub>δ<sub>2</sub>) al disminuir las cadenas δ.

Hay que señalar que niveles de HbA<sub>2</sub> inferiores a 3,5 %, junto con índices eritrocitarios disminuidos, serían compatibles con α-tal, y según los valores de HCM y el origen étnico (debe revisarse si el portador es de zona de alto riesgo de talasemia α<sup>0</sup>), deberían confirmarse con un estudio genético por el riesgo de fetos afectados de *Hidrops Fetalis* (ausencia de los cuatro genes α).

- **HbF**. Los niveles de HbF son normalmente inferiores al 1 % a partir de los 2 años. Niveles por encima de 2 % en adultos deberían requerir más estudios para detectar determinadas entidades clínicas. Hay que señalar que durante el embarazo la HbF puede incrementarse hasta un 3-5 %, por lo que estos valores son difíciles de interpretar. Valores por encima del 5 % durante la gestación podrían indicar la presencia de HPHF heterocelular, por lo que se recomienda su seguimiento a los 6 meses del parto. Por tanto, según las recomendaciones de la EMQN, habría que solicitar un estudio a la pareja si en la gestante nos encontramos una de estas dos situaciones con relación a la HbF (2):
  - **Niveles de HbF por encima del 5 % y un VCM y HCM disminuidos**: se asocian a δβ-tal en heterocigosis o una delección <sup>A</sup>γδβ. Los niveles de HbA<sub>2</sub> (α<sub>2</sub>δ<sub>2</sub>) los encontramos dentro de la normalidad debido a la delección de uno de los genes δ. El incremento de HbF podría estar implicado en una mayor tasa de transcripción del gen *HBG* por la delección del gen *HBE*. Es importante detectar portadores de estas entidades por su combinación con β-tal o Hb Lepore (Fig. 4).
  - **Niveles de HbF por encima del 10 % y un VCM y HCM normal**: se asocian con HPHF en heterocigosis. Podemos clasificar la HPHF en dos tipos, la deleccional y la no deleccional. En la HPHF deleccional podemos encontrar delecciones de diferente tamaño que afectan a los genes β y δ, como en la denominada tipo 1 (*Black HPHF-1*), tipo 2 (*Ghanaian HPHF-2*), tipo 3 (*Indian HPHF-3*), tipo 4 (*Italian HPHF-4*) o tipo 5 (*Italian 2/Sicilian HPHF-5*). En la HPHF no deleccional, encontramos mutaciones puntuales que pueden afectar al gen <sup>A</sup>γ o al <sup>G</sup>γ.

		Madre biológica									
Padre biológico	Portador de:	HbS	talasemia $\beta$	talasemia $\delta\beta$	Hb Lepore	HbE	HbO <sup>Arab</sup>	HbC	HbD <sup>Punjab</sup>	HFPH	No identificado como portador
	HbS	Red	Red	Green	Green	Green	Red	Red	Red	Green	
	Talasemia $\beta$	Red	Red	Red	Red	Red	Green				
	Talasemia $\delta\beta$	Green	Red	Green	Red	Green					
	Hb Lepore	Green	Red	Red	Red	Green	Green				
	HbE	Green	Red	Green	Green						
	HbO <sup>Arab</sup>	Red	Green	Green	Green						
	HbC	Red									
	HbD <sup>Punjab</sup>	Red									
	HFPH	Green									
	No identificado como portador										

Interpretación:

- Riesgo con fenotipo clínico grave: remitir a la pareja para asesoramiento genético (se ofrecerá diagnóstico prenatal).
- Riesgo con fenotipo clínico de menor severidad: remitir a la pareja para asesoramiento (puede requerirse una investigación adicional).
- Riesgo mínimo.

**Figura 4** – Combinación de genotipos según el estado de portadores de los padres en el cribado antenatal y su indicación de diagnóstico prenatal. Adaptado de: NHS Sickle Cell and Thalassaemia Screening Programme. Hand- book for Antenatal Laboratories 2017.

La consecuencia final es que en los portadores de esta entidad la HbA<sub>2</sub> ( $\alpha_2\delta_2$ ) se encuentra disminuida (en la delecional) o dentro de la normalidad (en la no delecional) y la Hb F > 10 % (mayores niveles en las delecionales, normalmente con valores de 20-25 %).

Es importante identificar esta entidad, ya que la combinación de HPHF delecional y Hb S produce un genotipo de Hb S en hemicigosis (al estar delecionado uno de los genes  $\beta$ ), pero con un fenotipo clínico menos severo que la Hb en homocigosis gracias al incremento de Hb F, ya que la Hb F es un potente inhibidor de la polimerización de la desoxihemoglobina S. Por tanto, en los casos en los que se sospeche en la gestante la presencia de HPHF por los parámetros hematimétricos anteriormente descritos, el padre biológico debe ser estudiado, ya que, si es portador de Hb S, hay riesgo de Hb S en hemicigosis con un fenotipo clínico leve de drepanocitosis y en estos casos el diagnóstico prenatal no estaría indicado (Fig. 4).

Hay que señalar que en portadores de  $\beta$ -tal o de HbS los niveles de HbF suelen estar dentro de la normalidad. Si se detecta una elevación por encima del 7-8 % de Hb F, debe sospecharse la coexistencia de variaciones génicas, como la triplicación de genes  $\alpha$  (en estos casos suele ir asociada a un fenotipo de  $\beta$ -tal intermedia con niveles de Hb entre 7 y 10 g/dL), polimorfismos en el promotor del gen G $\gamma$  o variantes en genes de factores de transcripción que actúen sobre el gen  $\gamma$  (2, 15).

**2. Estudio del metabolismo del hierro:**

Parámetros como el índice de saturación de la transferrina y de la ferritina pueden medirse para evaluar el estatus de hierro, lo que es útil en individuos con VCM y HCM disminuidos y HbA<sub>2</sub> y HbF dentro de la normalidad. El estudio nos permitirá distinguir entre deficiencia de hierro y portadores de  $\alpha$ -tal o ciertas formas de  $\beta$ -tal en heterocigosis denominadas "silentes", en las que encontraremos un perfil del metabolismo del hierro dentro de la normalidad. Sin embargo, es importante destacar que puede coexistir una deficiencia de hierro con talasemia, lo que nos lleva a un diagnóstico erróneo. Se recomienda repetir el estudio hematimétrico una vez que se normalicen las reservas de hierro (aunque no siempre es factible en parejas con embarazo en curso) (2).

**ESTUDIOS GENÉTICOS**

**Aspectos generales en el estudio de hemoglobinopatías**

En la actualidad, numerosos métodos basados en la reacción de la cadena de la polimerasa (PCR) pueden usarse para detectar las variantes de la hemoglobina.

Entre ellos, los más utilizados son la ARMS-PCR (*Amplification Refractory Mutation System* o PCR alelo específica), RE-PCR (amplificación y tratamiento con enzimas de restricción), PCR a tiempo real con análisis de curvas *melting*, pirosecuenciación, secuenciación de Sanger y *dot-blot* reverso (17).

Para el estudio de deleciones y duplicaciones, los métodos más utilizados son la GAP-PCR (por ejemplo, para el estudio de  $\delta\beta$ -tal), MLPA (*multiplex ligation-dependent-probe amplification*) y aCGH (*array comparative genome hybridization*). El método de GAP-PCR está siendo desbancado por estos últimos, ya que pueden detectar nuevas deleciones/duplicaciones, muy útiles en el estudio de las grandes deleciones del clúster  $\beta$  o triplicaciones  $\alpha$ , cuando la sospecha clínica sea de  $\beta$ -tal intermedia por coexistencia de  $\beta$ -tal en heterocigosis y triplicación  $\alpha$ .

La correcta caracterización de genotipos en portadores es extremadamente importante para realizar un correcto consejo genético y es esencial antes de realizar un diagnóstico prenatal / preimplantacional. Las recomendaciones de la EMQN (2) para el estudio genético de portadores son las siguientes:

- Antes de realizar la prueba genética, evaluar los resultados hematológicos para seleccionar la prueba genética apropiada para cada caso.
- Una vez realizada la prueba genética, reevaluar el caso con los resultados hematológicos.
- Evaluar la historia familiar y hematológica en los casos en los que sea relevante.
- Se recomienda confirmar las alteraciones genéticas en portadores y en el diagnóstico prenatal por dos métodos.
- Si la secuenciación Sanger es el único método disponible, se recomienda que la región diana sea secuenciada por duplicado (si es posible con distintos cebadores) y en ambas direcciones (*forward y reverse*).
- Si obtenemos un resultado negativo para el estudio de deleciones/duplicaciones mediante GAP-PCR y hay alta sospecha de variante, se recomienda repetir el estudio mediante la técnica MLPA o aCGH.

### Estrategias de estudio genético de $\beta$ -tal

Las hemoglobinopatías más comunes tienen un patrón característico en la población. El espectro y la frecuencia de estas variantes habitualmente se han publicado en la literatura y normalmente están limitados a un determinado número en cada población. Por tanto, es de vital importancia para su estudio el conocimiento del origen étnico para seguir una correcta estrategia diagnóstica.

Es de gran utilidad tener métodos de cribado de las mutaciones más frecuentes en cada población de estudio (según el origen étnico) para optimizar recursos (8,16). Para ello, los métodos más utilizados son la

ARMS-PCR, RE-PCR, Real Time-PCR y pirosecuenciación. Otra opción es la secuenciación del gen de la  $\beta$ -globina por Sanger que permita detectar variantes a lo largo de todo el gen. Para el estudio de grandes deleciones, como la  $\delta\beta$ -tal, Hb Lepore o HPHF, podremos utilizar la GAP-PCR o la técnica MLPA para el clúster  $\beta$ .

Se recomienda informar del estudio genético junto a los parámetros hematológicos (hematimetría y estudio de hemoglobinas). Debe de usarse la nomenclatura HGVS (*Human Genome Variation Society*) para evitar ambigüedad entre laboratorios, además de la nomenclatura tradicional. La mayoría de las nomenclaturas podemos encontrarlas en la base de datos HbVar Globin Gene Server (<http://globin.bx.psu.edu/hbvar/menu.html>).

### Análisis de ADN fetal

En caso de un estudio prenatal, deben obtenerse muestras de sangre de los padres para la realización de un hemograma y un estudio de hemoglobinas y de ADN para confirmar las mutaciones durante el cribado y para su estudio simultáneo con la muestra fetal. En los casos en los que la pareja de la gestante portadora no esté disponible para el estudio, si detectamos en el estudio de la velloosidad coriónica o en el del líquido amniótico que el feto es portador de drepanocitosis o  $\beta$ -tal heredada de la madre, debe secuenciarse el gen completo de la  $\beta$ -globina del feto para excluir una segunda mutación en el gen  $\beta$ . Es recomendable excluir contaminación del ADN fetal con ADN materno mediante kits comerciales que detecten STRs (*short tandem repeat polymorphisms*) (2).

### MANEJO, TRATAMIENTO Y NUEVAS TERAPIAS EN LA TALASEMIA $\beta$ MAYOR

Los tratamientos para la  $\beta$ -tal dependen del tipo y de su gravedad. En líneas generales, los pacientes con  $\beta$ -tal mayor requieren transfusiones de sangre debido a la anemia severa y a la inhibición de la absorción gastrointestinal de hierro. Los pacientes con transfusiones regulares desarrollan manifestaciones clínicas típicas de la sobrecarga de hierro: hipogonadismo (35-55 % de los pacientes), hipotiroidismo (9-11 %), hipoparatiroidismo (4 %), diabetes (6-10 %), fibrosis hepática y disfunción cardíaca (33 %). Por tanto, deben realizarse estudios del metabolismo férrico en pacientes multitransfundidos y evaluar la necesidad y la monitorización de terapia con quelantes de hierro. Además de la sobrecarga férrica, pueden aparecer otras complicaciones derivadas de transfusiones repetidas, como infecciones, reacciones transfusionales, etc. (7,18).

En la actualidad, el único tratamiento que puede curar la talasemia es el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (HLA compatible), aunque en los últimos años, gracias al conocimiento de la regulación del clúster de genes de la  $\beta$ -globina, hay numero-

ensos ensayos clínicos basados en la terapia génica con resultados muy prometedores (19).

Las nuevas terapias están basadas en la inserción de genes mediante vectores virales o en la edición de genes mediante la tecnología CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) en células hematopoyéticas autólogas. La inserción de genes mediante vectores virales (retrovirus o lentivirus) se basa en la transferencia de los genes  $\beta$  modificados y en sus secuencias reguladoras en células madre hematopoyéticas autólogas para que se produzcan cadenas  $\beta$  funcionales (20). En junio de 2019 la Agencia Europea del Medicamento (EMA) y en octubre de 2022 la FDA (Food and Drug Administration) aprobaron la primera terapia basada en la inserción de genes mediante el vector lentiviral que codifica para el gen  $\beta^{A-T87Q}$ -globina en pacientes con  $\beta$ -tal con necesidades transfusionales (19).

Otra estrategia de terapia génica utilizada en ensayos clínicos se basa en el editado del ADN, que consiste en modificar directamente los genes afectados mediante la tecnología CRISPR. Ensayos clínicos recientes se basan en la interrupción del factor de transcripción BCL11A mediante CRISPR-Cas9, cuya consecuencia será un incremento de expresión de cadenas  $\gamma$  (incrementado la expresión de Hb F) (19).

## CONCLUSIONES

El impacto de los fenómenos migratorios de población portadora de hemoglobinopatías desde áreas endémicas a regiones con baja prevalencia ha incrementado significativamente la ratio de portadores y el espectro de mutaciones asociadas a cada área.

Una gran variedad de alteraciones genéticas que afectan al clúster de la  $\beta$ -globina puede dar lugar a numerosos fenotipos clínicos con distintos grados de severidad. Esto ha llevado a algunos países con alta prevalencia a desarrollar sistemas de cribado antenatal y neonatal para la identificación de portadores o afectados. El Laboratorio Clínico juega un papel fundamental en la identificación de estas variantes, ya que disponemos de las técnicas necesarias (hematimétricas y moleculares) para una correcta caracterización. Además, es importante la evaluación del riesgo asociado a estos pacientes y su descendencia para ofrecer un consejo genético adecuado.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Taher AT, Musallam KM, Cappellini MD.  $\beta$ -Thalassemias. *N Engl J Med* 2021;384(8):727-43. DOI: 10.1056/NEJMra2021838
2. Traeger-Synodinos J, Hartevelde CL, Old JM, Petrou M, Galanello R, Giordano P, et al. EMQN Best Practice Guidelines for molecular and haematology methods for carrier identification and prenatal diagnosis of the haemoglobinopathies. *Eur J Hum Genet* 2015;23(4):560. DOI: 10.1038/ejhg.2015.39
3. Zakaria NA, Bahar R, Abdullah WZ, Mohamed Yusoff AA, Shamsuddin S, Abdul Wahab R, et al. Genetic Manipulation Strategies for  $\beta$ -Thalassemia: A Review. *Front. Pediatr* 2022;10:901605. DOI: 10.3389/fped.2022.901605
4. Kalle Kwaifa I, Lai MI, Md Noor S. Non-deletional alpha thalassaemia: a review. *Orphanet J Rare Dis* 2020;15(1):166. DOI: 10.1186/s13023-020-01429-1
5. Bao X, Zuo Y, Chen D, Zhao C. DNA methylation patterns of  $\beta$ -globin cluster in  $\beta$ -thalassaemia patients. *Clin Epigenetics* 2020;12(1):187. DOI: 10.1186/s13148-020-00987-2
6. Old J, Timbs A, McCarthy J, Gallienne A, Proven M, Rugless M, et al. New Challenges in Diagnosis of Haemoglobinopathies: Migration of Population. *Thalass Rep* 2018; 8(1):7474. DOI: 10.4081/thal.2018.7474
7. Galanello R, Origa R. Beta-thalassaemia. *Orphanet J Rare Dis* 2010; 5(1):11. DOI: 10.1186/1750-1172-5-11
8. Cao A, Galanello R. Beta-thalassaemia. *Genet Med* 2010;12(2):61-76. DOI: 10.1097/GIM.0b013e3181cd68ed
9. Thein SL. The molecular basis of  $\beta$ -thalassaemia. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2013;3(5):a011700. DOI: 10.1101/cshperspect.a011700
10. Ropero R, González Fernández FA, Martínez Nieto J, Torres Jiménez WM, Benavente Cuesta C.  $\beta$ -talasemia intermedia: triplicación de genes  $\alpha/\beta$  talasemia heterocigota en España. *An RANM* 2021;138(01):60-71. DOI: 10.32440/ar.2021.138.01.rev07
11. Kattamis A, Forni GL, Aydinok Y, Viprakasit V. Changing patterns in the epidemiology of  $\beta$ -thalassaemia. *Eur J Haematol* 2020;105(6):692-703. DOI: 10.1111/ejh.13512
12. Eleftheriou A, Angastiniotis M. *Global Thalassaemia Review 2021*. Thalassaemia International Federation; 2022.
13. Ryan K, Bain BJ, Worthington D, James J, Plews D, Manson A, et al. Significant haemoglobinopathies: guidelines for screening and diagnosis. *Br J Haematol* 2010; 149(1):35-49.
14. ENERCA. Recommendations for preconceptional or antenatal screening, prenatal diagnosis and genetic counselling of haemoglobinopathies; 2013.
15. NHS Sickle Cell and Thalassaemia Screening Programme. Handbook for Antenatal Laboratories; 2017. Disponible en: <https://www.gov.uk/government/publications/sickle-cell-and-thalassaemia-screening-handbook-for-laboratories>
16. Munkongdee T, Chen P, Winichagoon P, Fucharoen S, Paiboonsukwong K. Update in Laboratory Diagnosis of Thalassaemia. *Front Mol Biosci* 2020;7:74.
17. Nurrat M, Moiz B, Nasir A, Rasool Hashmi M. An insight into the suspected HbA2' cases detected by high performance liquid chromatography in Pakistan. *BMC Res Notes* 2011;4:103. DOI: 10.1186/1756-0500-4-103
18. Ali S, Mumtaz S, Shakir HA, Khan M, Tahir HM, et al. Current status of beta-thalassaemia and its treatment strategies. *Mol Genet Genomiz Med* 2021;9:e1788. DOI: 10.1002/mgg3.1788
19. Segura E, Ayoub P, Hart K, Kohn D. Gene therapy for  $\beta$ -Hemoglobinopathies: From Discovery to Clinical Trials. *Viruses* 2023;15:713.
20. Locatelli F, Thompson AA, Kwiatkowski JL, Porter JB, Thrasher AJ, Hongeng S, et al. Betibeglogene autotemcel gene therapy for non- $\beta^0/\beta^0$  genotype  $\beta$ -thalassaemia. *N Engl J Med* 2022;386(5):415-27. DOI: 10.1056/NEJMoa2113206





## Artículo Especial

# Propuesta de gestión de muestras externalizadas desde la perspectiva de la seguridad del paciente

## *Sendout testing management: a proposal to improve patient's safety*

María Orera Clemente<sup>1,2</sup>, Emilio José Laserna Mendieta<sup>1,3,4</sup>, Rufino Mondéjar García<sup>1,5</sup>,  
Pilar Sanz Martín<sup>1,6</sup>, Marta Molina Romero<sup>1,7</sup>

<sup>1</sup>Comité de Medicina Personalizada. Asociación Española de Medicina Personalizada Medicina de Laboratorio. Madrid.

<sup>2</sup>Departamento de Biología Celular. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. Madrid. <sup>3</sup>Instituto de Investigación

Sanitaria de La Princesa. Madrid. <sup>4</sup>Unidad de Investigación. Hospital General de Tomelloso. Tomelloso, Ciudad Real. <sup>5</sup>Servicio de

Bioquímica Clínica. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. <sup>6</sup>Laboratorio Clínico. Hospital Universitario de La Princesa. Madrid.

<sup>7</sup>Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada

**Recibido:** 19/10/2022  
**Aceptado:** 28/08/2023

**Correspondencia:** María Orera Clemente. Departamento de Biología Celular.  
Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. Plaza de Ramón y Cajal, s/n.  
28040 Madrid  
e-mail: morera@ucm.es

## INTRODUCCIÓN

Debido a la complejidad y a la diversidad creciente de las pruebas de laboratorio, el número de muestras que se analizan fuera (pruebas externalizadas) ha aumentado paulatinamente y resulta difícil determinar el impacto de este tipo de pruebas en los resultados clínicos. La derivación de pruebas fuera del Laboratorio implica un mayor número de pasos, muchos de ellos no automatizados, lo que da lugar a que se incrementen el riesgo de error y la posibilidad de daños al paciente (1).

Desde el inicio del proceso, este tipo de pruebas presentan características específicas. Las pruebas externalizadas suelen tener circuitos alternativos que escapan del control de los laboratorios centrales, por lo que es prácticamente imposible establecer mecanismos que controlen

la idoneidad de la prueba, el tipo de muestra a utilizar, los tiempos de respuesta, el tipo de contenedor, las condiciones de traslado, el tiempo de demora, el modo de comunicación de los resultados y la forma de integración de los datos en la historia clínica del paciente y su interpretación, lo que podría conducir a errores en su manejo (Tabla I).

Por todo ello, para asegurar una buena interpretación y utilización de los resultados de Laboratorios Externos, es fundamental evidenciar la necesidad de una comunicación y una cooperación estrechas entre los Laboratorios y todos los profesionales sanitarios implicados.

La externalización de pruebas de laboratorio implica que parte del proceso analítico se desarrolle fuera del Laboratorio, con el consiguiente aumento del riesgo asistencial, que puede comprometer la seguridad del paciente.

*Conflicto de interés:* los autores declaran no tener conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00153

Orera Clemente M, Laserna Mendieta EJ, Mondéjar García R, Sanz Martín P, Molina Romero M. Propuesta de gestión de muestras externalizadas desde la perspectiva de la seguridad del paciente. Rev Med Lab 2023;4(2):64-71

Tabla I.

## Posibles errores en el manejo de pruebas externalizadas y de investigación

<b>Fase preanalítica</b>	Dificultad en la gestión de la demanda Solicitud errónea Prueba mal indicada Instrucciones de extracción incompletas o erróneas Ausencia de consentimiento informado Retraso en envío de la muestra
<b>Fase postanalítica</b>	Retraso en el registro del resultado Dificultad para integrar el resultado en la HCE Error en la transcripción del resultado Error de interpretación por parte del clínico Retraso en avisar de resultados críticos

HCE: historia clínica electrónica.

La seguridad del paciente es un componente clave de la calidad asistencial y que ha adquirido gran relevancia en los últimos años, tanto para los pacientes y sus familias, que desean sentirse seguros y confiados con los cuidados sanitarios recibidos, como para los profesionales, que desean ofrecer una asistencia sanitaria segura, efectiva y eficiente.

Se entiende como seguridad del paciente la ausencia de daño evitable durante los procesos de atención sanitaria, ya que todos ellos implican el riesgo de aparición de eventos adversos, que puedan ocasionar lesiones, discapacidades e incluso la muerte del paciente (2).

Por otro lado, se considera error de laboratorio cualquier defecto que ocurra en cualquiera de las etapas del ciclo del laboratorio, desde la solicitud de magnitudes hasta el informe de resultados y su adecuada interpretación (3).

La seguridad del paciente constituye una prioridad para la Organización Mundial de la Salud (OMS) y otros organismos internacionales, como la Unión Europea y el Consejo de Europa, autoridades sanitarias, sociedades profesionales y organizaciones de pacientes.

En España, el Ministerio de Sanidad y Política Social, en la responsabilidad que tiene de mejorar la calidad del sistema sanitario en su conjunto, como marca la Ley 16/2003 de Cohesión y Calidad del Sistema Nacional de Salud (SNS) (4), ha considerado la seguridad del paciente como un componente clave de la calidad, situándola en el centro de la política sanitaria. Así, a través de su estrategia respecto a la Seguridad del Paciente del SNS 2015-2020 (5), impulsa y promueve la cultura de la seguridad del paciente, la gestión de los riesgos en las entidades sanitarias, la formación y la colaboración entre los profesionales, la implantación de prácticas seguras recomendadas en los centros del SNS y la participación ciudadana, entre otras cuestiones.

En España, el *Estudio nacional de los efectos adversos ligados a la hospitalización* (ENEAS) (6) hace referencia a que los eventos adversos detectados relacionados con el diagnóstico o con las pruebas diagnósticas suponen un 2,8 % y que son evitables en un 84,2 % de los casos. Los principales errores identificados fueron: "error de identificación del paciente"; "interpretación incorrecta de los resultados"; "suspensión de la exploración por insuficiente preparación del paciente"; "reactivos caducados"; "retraso en el diagnóstico por falta de pruebas pertinentes"; "falta de atención a la anamnesis"; "tiempo inapropiado de entrega de informes definitivos"; "contaminación de sangre en el laboratorio" y "equipos mal calibrados". Muchos de ellos son potencialmente más probables cuando las pruebas se realizan en un Laboratorio Externo al centro solicitante, ya que los sistemas de intercambio de información entre profesionales están mucho más limitados y la distancia entre centros, junto a los sistemas de transporte y todo el proceso de envío y recepción de muestras, generan una mayor probabilidad de error y un mayor riesgo de no identificarlos o de hacerlo tardíamente.

La implantación de políticas y de procedimientos basados en el análisis de los errores que pueden llegar a darse en este proceso contribuirán a la elaboración de un modelo o de una estrategia de la calidad orientados al estudio de estos eventos adversos, determinando sus causas y proponiendo acciones de mejora que puedan llegar a reducir su impacto en la seguridad del paciente (7,8).

Podemos definir *riesgo asistencial* como la probabilidad de que se produzca un resultado indeseable o la ausencia de un resultado deseable a lo largo de la cadena de la externalización de pruebas, desde su solicitud, el envío y el procesamiento de la muestra y la emisión hasta la recepción del resultado (9). Los riesgos que rodean a las pruebas externalizadas son múltiples y, con frecuencia, se gestionan de forma descoordinada y sin disponer de la información precisa para ello, lo que puede provocar las siguientes consecuencias (10):

- Aumento de la gravedad y de la complejidad de la enfermedad del paciente.
- Aumento de la estancia hospitalaria.
- Aumento en los costes de la asistencia y de las reclamaciones.
- Reducción de la efectividad.
- Reducción de la satisfacción.
- Aumento de la mortalidad.

El grupo de trabajo, conformado por los miembros del Comité de Medicina Personalizada de la Asociación de Biopatología Médica-Medicina de Laboratorio (AEBM-ML), ha realizado una revisión bibliográfica sobre los diversos aspectos que pueden verse comprometidos en los estudios externalizados, tanto en el área asistencial como en el ámbito de la investigación, incluyendo las fases preanalítica y postanalítica, proponiendo una serie de medidas encaminadas a mejorar el manejo de este tipo de muestras.

## ACTIVIDAD ASISTENCIAL

### Preanalítica

La fase preanalítica abarca la selección y la solicitud de pruebas, así como la recolección, la manipulación y el procesamiento de muestras. La mayoría de los errores cometidos en todas las fases del proceso analítico se localizan en esta fase (hasta un 70 %) (11). La solicitud inapropiada de pruebas de laboratorio es la principal fuente de errores (12).

Las pruebas externalizadas requieren de una fase anterior que asegure que los Laboratorios seleccionados están acreditados (al menos con certificación ISO 9001) y que disponen de un sistema de control de calidad trazable en todas las fases del proceso analítico.

No hay muchos estudios que informen sobre errores en la fase preanalítica para pruebas genéticas. Existe una alta variabilidad. Estas pruebas son aquellas que, por su complejidad, son principalmente derivadas a Laboratorios Externos. Smith y cols. notificaron un 1 % de pruebas inapropiadas (13), mientras que Miller y cols. detectaron un 26 % (14). Estas notables diferencias observadas entre estos dos estudios se debieron tanto al número de enfermedades como a su complejidad genética, ya que se estudiaron dos síndromes de cáncer hereditario en el primero de ellos y 38 enfermedades genéticas más complejas en el segundo estudio.

La Federación Europea de Química Clínica y Medicina de Laboratorio (EFLM) ha establecido unos criterios de optimización de la fase preanalítica que sirven de guía para la regulación de este proceso y que afectan a los siguientes aspectos (15):

- Preparación del paciente y ayuno.
- Estandarización de la codificación de los tubos de recogida.
- Armonización de la secuencia de extracción.
- Guías para la validación de los tubos de extracción.

La información de estos cuatro puntos anteriores no está disponible para todas las pruebas que se solicitan a Laboratorios Externos de una forma sencilla y accesible. Si se incumplen condiciones preanalíticas o de selección de contenedor de la muestra, pueden generarse problemas a la hora de valorar el resultado obtenido.

### Gestión de la demanda

Entre las múltiples funciones del Laboratorio Clínico se encuentra la de proporcionar información útil, precisa y a tiempo para servir de apoyo a la clínica en la prevención, en el diagnóstico y en el seguimiento de las enfermedades. Cabe destacar que las pruebas solicitadas al Laboratorio influyen en un porcentaje muy elevado de las decisiones médicas, pero también es cierto

que diariamente se solicitan numerosas pruebas que no son estrictamente necesarias o que son redundantes, lo que contribuye al gasto económico del laboratorio y a una sobreindicación de pruebas del Laboratorio (16-18) (Tabla II). Esta sobreindicación se encuentra también en las pruebas externalizadas, con el agravante de que generalmente no son del todo controladas por el laboratorio central, por lo que es mucho más difícil establecer mecanismos de control y de regulación.

En el caso de las pruebas externalizadas, es importante realizar una revisión de la historia clínica para establecer la técnica más apropiada con el objetivo de obtener los mejores resultados al menor coste (valorar el coste-efectividad) (19) o si es necesaria o no su solicitud antes del envío de la muestra a otro centro. Esto es de especial interés en las pruebas genéticas, ya que, una vez realizadas, normalmente no es necesario repetir las. Además, para una misma sospecha clínica pueden realizarse distintos estudios con un coste muy dispar. En este sentido, puede plantearse, por ejemplo, la elección de estudios de hibridación genómica comparada (arrays CGH) con diferente resolución o la realización de un panel de genes frente a un exoma clínico. También sería de interés la revisión por parte de un facultativo del resto de pruebas bioquímicas no disponibles en la cartera de servicios del centro. Esta valoración es en ocasiones complicada, por lo que sería deseable que el profesional de Laboratorio Clínico participase activamente en la decisión de la prueba a realizar, aunque esta estuviera externalizada o se destinara a un estudio de investigación.

Del presupuesto total de un hospital, un 3-5 % son costes producidos por el Laboratorio. Hay estudios que evidencian que el aumento de las prestaciones del Laboratorio crece un 16,5 % anualmente (20). A pesar de este crecimiento, se ha sugerido que un 25-40 % de las determinaciones solicitadas pueden ser cuestionables y que la repetición innecesaria de pruebas podría situarse en el 16-30 % (16).

Debido a que el gasto sanitario cada vez es mayor y a que los recursos son limitados, los Laboratorios han desarrollado estrategias de gestión de la demanda analítica (17). La progresiva integración del Laboratorio en los sistemas de información de gestión clínica permite la implantación de la petición electrónica como herramienta para realizar la solicitud de pruebas analíticas. Esta circunstancia abre la puerta al desarrollo de estrategias para la gestión de la demanda que intervengan cuando el médico peticionario realiza la solicitud (18). De acuerdo al momento en que se implanten las estrategias sobre la gestión de la demanda, pueden considerarse tres posibles niveles de actuación, que aparecen recogidos en la tabla III (20).

Este tipo de acciones solo pueden llevarse a cabo cuando el Laboratorio tiene control sobre las peticiones (21), por lo que son más difíciles de implementar en las pruebas externalizadas y de investigación.

Tabla II.

## Factores que contribuyen al aumento de la demanda de solicitudes al Laboratorio

<b>Clínicos</b>	<p>Incremento de la formación de los médicos</p> <p>Exceso de confianza en los resultados</p> <p>Realización de cribados</p> <p>Protocolización inadecuada</p> <p>Solicitud de pruebas para detectar enfermedades no sospechadas</p> <p>Seguimiento del curso clínico con una frecuencia superior a la necesaria</p> <p>Curiosidad, inseguridad</p> <p>Lucro</p>
<b>Científicos y del Laboratorio</b>	<p>Equipos analíticos que facilitan el acceso a muchas magnitudes</p> <p>Retraso en la emisión de informes de resultados</p> <p>Mantenimiento de pruebas obsoletas en la cartera de servicios</p> <p>Incorporación de nuevas pruebas sin suficiente evaluación</p> <p>Falta de formación clínica</p> <p>Necesidad de realizar estudios adicionales para completar una publicación científica</p> <p>Creciente disponibilidad de pruebas de laboratorio</p>
<b>Del hospital</b>	<p>Disminución de la estancia media e incremento de la rotación de pacientes</p> <p>Reducción del tiempo de consulta</p> <p>Ampliación del espectro de enfermedades tratables</p>
<b>Otros</b>	<p>Medicina defensiva</p> <p>Envejecimiento de la población</p> <p>Presión del paciente</p>

Tabla III.

## Actuaciones encaminadas a mejorar la gestión de la demanda

<b>Previas a la petición</b>	<p>Acciones de información o educativas</p> <p>Seguimiento de protocolos y guías clínicas</p> <p>Establecimiento de perfiles consensuados de petición entre el Laboratorio y clínicos peticionarios</p>
<b>En el momento de la petición</b>	<p>De tipo informativo</p> <p>De tipo limitante</p>
<b>Posteriores a la petición</b>	<p>Rechazo de pruebas por solicitud inadecuada</p> <p>Suspender la realización de una prueba hasta el contacto con el médico peticionario</p> <p>Exigir una justificación expresa para la solicitud de determinadas pruebas</p> <p>Realización de pruebas reflejas y complementarias por parte del Laboratorio cuando se precisen</p> <p>Dar información periódica a los peticionarios sobre su demanda analítica</p> <p>Adecuar el tiempo de respuesta</p> <p>Imputar el presupuesto del Laboratorio a los solicitantes</p>

**Consentimiento informado**

Un apartado muy importante dentro del proceso preanalítico de algunas pruebas que se realizan o se derivan a Laboratorios Externos, tales como las pruebas genéticas, es el consentimiento informado (CI). Este consentimiento, voluntario y libre, es fundamental para preservar el principio de autonomía y los derechos de los pacientes. Además, puede contener elementos para proteger a los profesionales frente a reclamaciones legales.

Los elementos que debe contener el CI pueden variar en función del propósito de la prueba (22). Para las pruebas

genéticas deben contemplarse, entre otros, los siguientes puntos:

- Información sobre si va a realizarse exclusivamente en ámbito asistencial o de si se realiza también en un contexto de investigación.
- Destino del material biológico excedente una vez finalizado el estudio.
- Si el paciente quiere conocer resultados no directamente relacionados con la patología a estudio, pero que se han encontrado incidentalmente.

En numerosas ocasiones surge la duda de cuándo es necesario la firma de un CI para la realización de una prueba

genética. Por un lado, en España la Ley de Investigación Biomédica 14/2007 (23) y la Orden SSI/2065/2014 (24) resaltan que, tanto a nivel asistencial como de investigación biomédica, toda indicación de análisis genético requiere de un consentimiento por escrito, obligatorio y proporcionado por profesionales de la salud, al mismo tiempo que se establece el derecho a no ser discriminado por motivos genéticos o por renuncia a la práctica de un análisis genético. Sin embargo, pruebas genéticas muy concretas, incluidas en la cartera de servicio y en la petición analítica electrónica en la que se especifica claramente el estudio (por ejemplo, polimorfismos del factor V de Leiden, de metilentetrahidrofolato reductasa [MTHFR] o de dihidropirimidina deshidrogenasa [DPYD]), no suelen requerir la firma/recogida de un CI si hay un consentimiento verbal del paciente antes de la extracción de la muestra (25). Asimismo, debemos hacer hincapié en no comunicar resultados inesperados en casos en los que la persona ejerce su derecho a que no se le comuniquen.

### Condiciones de envío

Las muestras derivadas fuera del Laboratorio requieren en algunas ocasiones la utilización de contenedo-

res y de condiciones específicas de envío que no se encuentran recogidas en los procedimientos habituales del Laboratorio. En la tabla IV se enumera el tipo de tubo usado para distintos tipos de estudios genéticos que, al ser menos frecuentes, suelen generar más dudas y pueden dar lugar a errores.

### Postanalítica

La fase postanalítica se fundamenta en la validación de resultados, elaboración y emisión del informe por parte del Laboratorio. En el contexto de las pruebas externalizadas, el Laboratorio Clínico debe recibir en tiempo y forma el informe de resultados del Laboratorio Externo.

En el ámbito de la genética, la realización cada vez más frecuente en los últimos años de paneles de secuenciación masiva y de exomas ha incrementado de manera muy notable nuestra capacidad de detección de variantes genéticas y, con ello, la complejidad en la interpretación clínica y comunicación en un informe de Laboratorio Clínico. Si estas pruebas se gestionan por el Laboratorio al margen del Sistema de Información de Laboratorio (SIL), es necesario contar con algún

Tabla IV.

#### Tubo recomendado para diferentes tipos de estudio genético y condiciones de conservación

Tipo de estudio	Tipo de muestra	Tipo de contenedor	Material de estudio	Anotaciones
Cariotipo	Sangre periférica	Heparina-litio	Linfocitos T	Debe procesarse en 24 horas Conservar a temperatura ambiente
Estudios genéticos hereditarios	Sangre periférica	EDTA-K3	ADN genómico	Conservar a 4° C
	Líquido amniótico	Tubo cónico estéril		Debe procesarse en las 48 horas siguientes Mantener a temperatura ambiente
	Biopsia (corial, piel, restos abortivos)	Tubo estéril		Medio de cultivo Debe procesarse en las 6 horas siguientes Mantener a temperatura ambiente Evitar contacto con formol
ADN fetal en sangre materna (test prenatal no invasivo)	Sangre periférica	EDTA-K3 + estabilizante celular	ADN fetal (plasma)	Estabiliza las células nucleadas e impide la liberación de ADN genómico materno Inhibe la degradación de ADN libre circulante Debe procesarse en las dos horas siguientes a la extracción
Fragmentos de ADN en sangre periférica	Sangre periférica	EDTA-K3 + estabilizante celular	ADN libre circulante (plasma)	
Expresión génica, estudio / caracterización de mutaciones puntuales	Sangre periférica	EDTA-K3 + estabilización de ARN intracelular	mRNA, miRNA	Se estabiliza el perfil de transcripción de genes <i>in vivo</i> al reducir la degradación del ARN <i>in vitro</i> y minimizar la inducción de genes

sistema que permita saber qué pruebas están pendientes de resultado. Adicionalmente, es preciso comprobar que los informes genéticos tengan una estructura y unos contenidos óptimos y que sean comprensibles e interpretables por los pacientes y los profesionales no especialistas (26).

Además, en función de las capacidades del SIL, este informe se añadirá de forma automática o manual a la petición analítica o, si no fuera posible, deberá incluirse en la historia clínica electrónica.

## MUESTRAS DE INVESTIGACIÓN

Las muestras para investigación constituyen una parte fundamental en muchos Laboratorios Clínicos. Ya sea por iniciativa propia o por colaboración con los proyectos desarrollados en los diferentes servicios clínicos, los profesionales del Laboratorio pueden participar en una o varias actividades que impliquen la utilización de estas muestras, desde su obtención hasta su explotación, pasando por la conservación, la circulación, la seguridad o la gestión (27). Entre los aspectos generales de mayor importancia sobre el uso de muestras de investigación cabe destacar:

- Debe conseguirse la aprobación de un Comité de Ética e Investigación Clínica (CEIC) antes de llevar a cabo la obtención de muestras para investigación.
- El sujeto/paciente participante debe haber leído la hoja de información al paciente y haber firmado el CI previamente aprobado por el CEIC correspondiente.
- El investigador responsable debe conocer la legislación aplicable al tratamiento de datos personales, al uso de muestras biológicas con fines de investigación y a su transporte.
- Debe crearse un sistema de registro e identificación de las muestras que permita su anonimato sin perder su trazabilidad.
- Hay que realizar una formación adecuada para el personal que vaya a manejar las muestras según el proceso en el que intervenga.

### Preanalítica

En las muestras de investigación debe controlarse la fase preanalítica, al igual que en las muestras de uso asistencial, para lograr así una calidad, una robustez y una reproducibilidad que minimicen los sesgos que pueden aparecer en esta fase.

En primer lugar, habría que establecer una diferenciación entre aquellas muestras de investigación destinadas a formar parte de un biobanco establecido como tal y aquellas que se obtienen para otros estudios de investigación, pero sin ser depositadas en ningún biobanco, o que quedarán guardadas como colecciones del grupo de investigación correspondiente.

Las primeras suelen requerir del control de ciertas variables, así como del registro de varios datos sobre

su procesamiento, dado que los biobancos suelen contar con procedimientos estandarizados y sistemas para asegurar la calidad (28,29).

Para las segundas, el grado de control depende en gran medida de la magnitud del estudio y del empeño particular de cada grupo de investigación en controlar las variables preanalíticas. Así, mientras los estudios multicéntricos con amplia financiación suelen contar con procedimientos estandarizados que podrían asemejarse a los empleados en biobancos, los estudios unicéntricos o el almacenamiento de muestras para futuras investigaciones suelen ser menos rigurosos en lo que respecta al control preanalítico de las muestras (30).

Las variables preanalíticas pueden tener una influencia directa en los resultados de una investigación y producir datos inexactos o sesgados. El empleo de indicadores de calidad (31), de registros como el BRISQ (*Biospecimen Reporting for Improved Study Quality*) (32) o el desarrollo de protocolos encaminados a disminuir la variabilidad, como el sistema de codificación SPREC (*Standard PREanalytical Code*) (33), constituyen herramientas de utilidad para el control de la fase preanalítica. Más allá de poder aplicar o no este tipo de herramientas, existen recomendaciones sobre qué aspectos generales deberían controlarse en esta fase para cualquier muestra de investigación (34):

- Conocer la estabilidad de los biomarcadores de mayor interés.
- Elegir el tipo adecuado de muestra para los biomarcadores o metabolitos (suero, plasma, orina, líquidos biológicos, heces, tejidos, cultivos celulares primarios, etc.) y consecuentemente el tubo o contenedor o procedimiento de recolección adecuado.
- Determinar aspectos relevantes en la toma de la muestra, como la preparación previa del paciente, la medicación interferente, la presión y el tiempo del torniquete, la posición del sujeto, etc.
- Establecer las condiciones de centrifugación (tiempos, rpm) para conseguir la separación de fracciones de las muestras.
- Identificar la temperatura de almacenamiento adecuada.
- Fijar la logística y las condiciones para el traslado de muestras si fuera necesario.

### Postanalítica

El manejo de los resultados de muestras de investigación suele estar más orientado al descubrimiento o a la evaluación de biomarcadores, con la consecuente publicación científica de las conclusiones obtenidas, que al manejo clínico de los pacientes.

Sin embargo, en ciertas ocasiones, bien porque se haya fijado con antelación en el protocolo del estudio, bien por interés clínico, los resultados obtenidos en muestras de investigación pueden darse a conocer a los pacientes participantes. En estos casos, el estable-

cimiento de sistemas de control de calidad en las fases preanalítica y analítica (en esta última por parte del Laboratorio Externo) serán elementos imprescindibles a considerar para asegurar la fiabilidad de los resultados. Así, no se recomienda que los resultados de investigación obtenidos en Laboratorios no certificados o sin unos mínimos procesos de control de la calidad se den a los pacientes (35). Si dichos requerimientos se cumplen, el Laboratorio Clínico o el equipo investigador podrán emitir informes de resultados interpretados dentro del contexto clínico del paciente, informando de las limitaciones propias de los biomarcadores / análisis / pruebas en investigación y añadirlas a la historia clínica del paciente.

## PROPUESTAS

El grupo de trabajo propone unas acciones aplicables tanto a las muestras externalizadas como a las muestras destinadas a investigación:

1. Inclusión de las pruebas externalizadas en la cartera de servicios. Teniendo en cuenta los errores cometidos en el proceso de petición, se considera apropiado incluir en la cartera del Laboratorio las pruebas externalizadas, con las indicaciones pertinentes al proceso de obtención y envío. De esta forma, la petición ya estaría controlada por el Laboratorio desde el origen.
2. Elaborar instrucciones accesibles (vía telefónica o en la página web) sobre el tipo de muestra, el contenedor y el modo de envío.
3. Establecimiento de circuitos que incluyan el registro de la muestra externalizada en el SIL, con asignación de un número de petición, estudio solicitado, Laboratorio al que se deriva la muestra y tiempo medio de respuesta.
4. Valoración de la posibilidad de inclusión en los sistemas de petición electrónica.
5. Valoración de la idoneidad de la prueba. La petición puede modificarse según criterios consensuados entre los profesionales implicados.
6. Aplicación de un mecanismo de control para identificar retrasos y controlar la entrega de resultados.
7. Establecimiento de vías de comunicación con los Laboratorios Externos a través de plataformas de resultados o buzones accesibles de correo electrónico por diversos profesionales del Laboratorio, con confirmación de recepción del resultado.
8. Integración del resultado en el SIL o desarrollo de un circuito de entrega al solicitante de la prueba, integrando los resultados críticos en los sistemas de alarma del Laboratorio.
9. Revisión de los informes y adición de comentarios, si procediese, para un mejor entendimiento de los resultados.

Además, la gestión de todas las pruebas externalizadas por parte del Laboratorio Clínico permitiría conocer la demanda de nuevas pruebas requeridas en

la práctica asistencial, así como su coste, para valorar una posible incorporación a su cartera de servicios. Somos conscientes de que la implementación de estas propuestas no depende en su totalidad de los gestores del Laboratorio y que es necesaria la implicación de otros responsables (dirección de servicios centrales, admisión, etc.).

## CONCLUSIONES

Es preciso aceptar que es muy difícil que un Laboratorio Clínico pueda realizar todos los estudios generados en el entorno médico actual y que es deseable que las instituciones sanitarias colaboren con los centros externos de referencia o de investigación para mejorar la calidad asistencial. Por tanto, es necesario elaborar circuitos y procedimientos que garanticen la idoneidad de los estudios externalizados, su calidad, la correcta interpretación de los resultados y, en definitiva, la seguridad del paciente. Los especialistas de Medicina de Laboratorio deben liderar y dirigir este tipo de acciones para así conseguir mejorar la eficiencia sin deterioro de la calidad asistencial.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Laposata M, Dighe A. «Pre-pre» and «post-post» analytical error: high-incidence patient safety hazards involving the clinical laboratory. *Clin Chem Lab Med* 2007;45(6):712-9. DOI: 10.1515/CCLM.2007.173
2. Plebani M, Aita A, Sciacovelli L. Patient Safety in Laboratory Medicine. En: Donaldson L, Ricciardi W, Sheridan S, Tartaglia R, editors. *Textbook of Patient Safety and Clinical Risk Management*. Cham (Suiza): Springer; 2021. Capítulo 24. DOI: 10.1007/978-3-030-59403-9\_24
3. Perkins IU. Error Disclosure in Pathology and Laboratory Medicine: A Review of the Literature. *AMA J Ethics* 2016;18(8):809-16. DOI: 10.1001/journalofethics.2016.18.8.nlit1-1608
4. BOE. Ley 16/2003 de Cohesión y Calidad del Sistema Nacional de Salud (SNS). Disponible en: <https://www.boe.es/eli/es/l/2003/05/28/16/con>
5. Agra Varela Y. Estrategia de Seguridad del Paciente del Sistema Nacional de Salud 2015-2020. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad; 2016.
6. Aranaz-Andrés JM, Aibar-Remón C, Vitaller-Murillo J, Ruiz-López P, Limón-Ramírez R, Terol-García E, et al. Incidence of adverse events related to health care in Spain: results of the Spanish National Study of Adverse Events. *J Epidemiol Community Health* 2008;62(12):1022-9. DOI: 10.1136/jech.2007.065227
7. Allen LC. Role of a quality management system in improving patient safety - laboratory aspects. *Clin Biochem* 2013;46(13-14):1187-93. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2013.04.028
8. Njoroge SW, Nichols JH. Risk management in the clinical laboratory. *Ann Lab Med* 2014;34(4):274-8. DOI: 10.3343/alm.2014.34.4.274
9. Lippi G, Blanckaert N, Bonini P, Green S, Kitchen S, Palicka V, et al. Causes, consequences, detection, and prevention of identification errors in laboratory diagnostics. *Clin Chem Lab Med* 2009;47(2):143-53. DOI: 10.1515/CCLM.2009.045
10. Mrak RE, Parslow TG, Tomaszewski JE. Outsourcing of Academic Clinical Laboratories: Experiences and Lessons from the Association of Pathology Chairs Laboratory Outsourcing Survey. *Acad Pathol* 2018;5:2374289518765435. DOI: 10.1177/2374289518765435

11. Lippi G, Chance JJ, Church S, Dazzi P, Fontana R, Giavarina D, et al. Preanalytical quality improvement: from dream to reality. *Clin Chem Lab Med* 2011;49(7):1113-26. DOI: 10.1515/CCLM.2011.600
12. Snyderman LK, Harubin B, Kumar S, Chen J, López RE, Salem DN. Voluntary electronic reporting of laboratory errors: an analysis of 37,532 laboratory event reports from 30 health care organizations. *Am J Med Qual* 2012;27(2):147-53. DOI: 10.1177/1062860611413567
13. Smith S, Marino I, Schaller J, Arnell C, Moyes K, Manley S. Optimization of quality assurance to increase clinical utility and cost effectiveness of hereditary cancer testing. *Pers Med* 2017;14(3):213-20. DOI: 10.2217/pme-2016-0091
14. Miller CE, Krautscheid P, Baldwin EE, Tvrdik T, Openshaw AS, Hart K, et al. Genetic counselor review of genetic test orders in a reference laboratory reduces unnecessary testing. *Am J Med Genet A* 2014;164A(5):1094-101. DOI: 10.1002/ajmg.a.36453
15. Lippi G, Simundic AM, European Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE). The EFLM strategy for harmonization of the preanalytical phase. *Clin Chem Lab Med* 2018;56(10):1660-6. DOI: 10.1515/cclm-2017-0277
16. Gil Ruiz MT, Martínez Huedo S. Papel del laboratorio clínico en la gestión de la demanda: un nuevo horizonte. *Rev Lab Clin* 2014;7(3):104-10.
17. Ibarz M, Cadamuro J, Sumarac Z, Guimaraes JT, Kovalevskaya S, Nybo M, et al. Clinicians' and laboratory medicine specialists' views on laboratory demand management: a survey in nine European countries. *Diagn Berl Ger* 2021;8(1):111-9. DOI: 10.1515/dx-2019-0081
18. Del Amo del Arco N, Márquez Liétor E, Ramos Corral R, Guillén Santos R, Bernabeu Andreu FA, Cava Valenciano F. Efectividad de una intervención para mejorar la gestión de la demanda de pruebas de laboratorio relacionadas con la anemia en Atención Primaria. *J Healthc Qual Res* 2020;35(5):291-6. DOI: 10.1016/j.jhqr.2019.12.002
19. Dickerson JA, Cole B, Conta JH, Wellner M, Wallace SE, Jack RM, et al. Improving the value of costly genetic reference laboratory testing with active utilization management. *Arch Pathol Lab Med* 2014;138(1):110-3. DOI: 10.5858/arpa.2012-0726-OA
20. García Raja A, Caballé Martín I, Giménez Marín Á. Uso adecuado del laboratorio clínico: necesidad y tendencias. *Rev Lab Clin* 2008;1(2):75-82. DOI: 10.1016/j.labcli.2008.07.002
21. Lubin IM, Astles JR, Shahangian S, Madison B, Parry R, Schmidt RL, et al. Bringing the clinical laboratory into the strategy to advance diagnostic excellence. *Diagn Berl Ger* 2021;8(3):281-94. DOI: 10.1515/dx-2020-0119
22. Pampols T, Rueda J, Milà M, Valverde D, Garín N, Vallcorba I, et al. El documento de consentimiento informado para la realización de pruebas genéticas en el ámbito asistencial y en proyectos de investigación. *Diagnóstico Prenat* 2013;24(2):46-56.
23. BOE. Ley de Investigación biomédica 14/2007 [consultado: 09/02/2022]. Disponible en: <https://www.boe.es/eli/es/l/2007/07/03/14>
24. BOE. Orden SSI/2065/2014 [consultado: 09/02/2022]. Disponible en: <https://www.boe.es/eli/es/o/2014/10/31/ssi2065>
25. Kakar H, Singh GR, Singh S, Kaur A, Nanda T. Informed Consent: Corner stone in Ethical Medical and Dental Practice. *J Family Med Prim Care* 2014;3(1):68-71. DOI: 10.4103/2249-4863.130284
26. Farmer GD, Gray H, Chandratillake G, Raymond FL, Freeman ALJ. Recommendations for designing genetic test reports to be understood by patients and non-specialists. *Eur J Hum Genet* 2020;28:885-95. DOI: 10.1038/s41431-020-0579-y
27. Instituto Roche. Guía práctica para la utilización de muestras biológicas en Investigación Biomédica [consultado: 04/01/2022]. Disponible en: [https://www.aemps.gob.es/medicamentos-de-uso-humano/guia\\_muestrasbio/](https://www.aemps.gob.es/medicamentos-de-uso-humano/guia_muestrasbio/)
28. Simeon-Dubach D, Zeisberger SM, Hoerstrup SP. Quality Assurance in Biobanking for Pre-Clinical Research. *Transfus Med Hemother* 2016;43(5):353-7. DOI: 10.1159/000448254
29. Esteva-Socias M, Artiga MJ, Bahamonde O, Belar O, Bermudo R, Castro E, et al. In search of an evidence-based strategy for quality assessment of human tissue samples: report of the tissue Biospecimen Research Working Group of the Spanish Biobank Network. *J Transl Med* 2019;17(1):370. DOI: 10.1186/s12967-019-2124-8
30. Gils C, Nybo M. Quality Control of Preanalytical Handling of Blood Samples for Future Research: A National Survey. *J Appl Lab Med* 2020;5(1):83-90. DOI: 10.1373/jalm.2019.029942
31. Plebani M. Quality indicators to detect pre-analytical errors in laboratory testing. *Clin Biochem Rev* 2012;33(3):85-8.
32. Moore HM, Kelly AB, Jewell SD, McShane LM, Clark DP, Greenspan R, et al. Biospecimen reporting for improved study quality (BRISQ). *J Proteome Res* 2011;10(8):3429-38. DOI: 10.1021/pr200021n
33. Betsou F, Lehmann S, Ashton G, Barnes M, Benson EE, Coppola D, et al. Standard preanalytical coding for biospecimens: defining the sample PREanalytical code. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2010;19(4):1004-11.
34. Guío-Mahecha E, Páez-Leal MC, Luna-González ML, Becerra-Bayona S, Corzo-Prada LE, Serrano-Díaz N. Control de calidad del material biológico humano recolectado con fines de investigación. *Rev Univ Ind Santander Salud* 2016;48(3):393-409.
35. Downey AS, Busta ER, Mancher M, Botkin JR, editores. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine, Health and Medicine Division, Board on Health Sciences Policy, Committee on the Return of Individual-Specific Research Results Generated in Research Laboratories. Returning Individual Research Results to Participants: Guidance for a New Research Paradigm. 1.ª edición. Washington (DC): National Academies Press (US); 2018.





## Caso Clínico

# Diagnóstico casual de fabismo en paciente enólico

## *Casual diagnosis of favism in an alcoholic patient*

*Carlos Requena Triguero<sup>1</sup>, Isabel Fort Gallifa<sup>2</sup>, María Victoria Rivera Moreno<sup>1</sup>,  
Montserrat Galofré Giralt<sup>1</sup>, Lucía del Carmen Vicente Pérez<sup>1</sup>, María Teresa Sans Mateu<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Laboratori Clínic ICS. Camp de Tarragona-Terres de l'Ebre. Institut Català de la Salut. Camp de Tarragona. Hospital Universitari de Tarragona Joan XXIII. Tarragona. <sup>2</sup>Hospital Universitari de Tarragona Joan XXIII. Tarragona. Comisión de Estrés Oxidativo, Sociedad Española de Medicina de Laboratorio (SEQC-ML). Barcelona. Universitat Rovira i Virgili. Tarragona. Institut d'Investigació Sanitària Pere Virgili (IISPV). Tarragona. Centre Recerca Biomèdica. Tarragona. Laboratori ICS de Tarragona i Terres del'Ebre. Tarragona

**Recibido:** 30/12/2022  
**Aceptado:** 21/02/2023

**Correspondencia:** Carlos Requena Triguero. Hospital Universitari de Tarragona Joan XXIII. Carrer del Doctor Mallafré i Guasch, 2. 43005 Tarragona  
e-mail: carlosretri.hj23.ics@gencat.cat

## INTRODUCCIÓN

Se presenta el caso de un varón de 57 años que acude a Urgencias por malestar general, ictericia cutánea y conjuntival, náuseas y nerviosismo de 24 horas de evolución. Refiere transgresión alcohólica (2-3 litros de cerveza y whisky). Presenta desde entonces el cuadro actual. Entre sus antecedentes destacan: hipertensión arterial, esquizofrenia paranoide y enolismo crónico. En la exploración física solo destaca el elevado tinte icterico de piel y escleras. No se evidenciaron anomalías respiratorias, cardiovasculares, abdominales ni neurológicas.

## CASO CLÍNICO

Los resultados de la analítica se muestran en la tabla I. Entre los valores a destacar se observó un valor bajo de hemoglobina y valores elevados de bilirrubina (a expensas de la fracción indirecta), lactato deshidrogena-

sa (LDH), creatinina y de las enzimas hepáticas alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST), entre otros.

El cuadro se orienta clínicamente como hepatitis aguda de origen alcohólico, pero el paciente decide abandonar el Servicio de Urgencias debido a una crisis de ansiedad que impide completar el estudio.

Debido a que los hallazgos clínicos y analíticos del Laboratorio de Urgencias sugerían la presencia de hemólisis aguda, se ampliaron los test pertinentes para filiar el origen. En el análisis complementario (Tabla II) destacaban altos niveles de reticulocitos y ferritina, así como valores bajos de haptoglobina, transferrina y deficiencia de ácido fólico. Además, el test de Coombs resultó negativo.

En el frotis de sangre periférica se observó una poiquilocitosis discreta y polimorfa con presencia de acantocitos, ovalocitos y excentrocitos (Fig. 1), una neutrofilia con una ligera desviación a la izquierda y refuerzo de la granulación y una serie plaquetar sin alteraciones.

*Conflicto de interés: los autores declaran no tener conflicto de interés.*

DOI: 10.20960/revmedlab.00163

Requena Triguero C, Fort Gallifa I, Rivera Moreno MV, Galofré Giralt M, Vicente Pérez LC, Sans Mateu MT. Diagnóstico casual de fabismo en paciente enólico. Rev Med Lab 2023;4(2):72-74

**Tabla I.**  
Valores analíticos de la primera visita del paciente a Urgencias

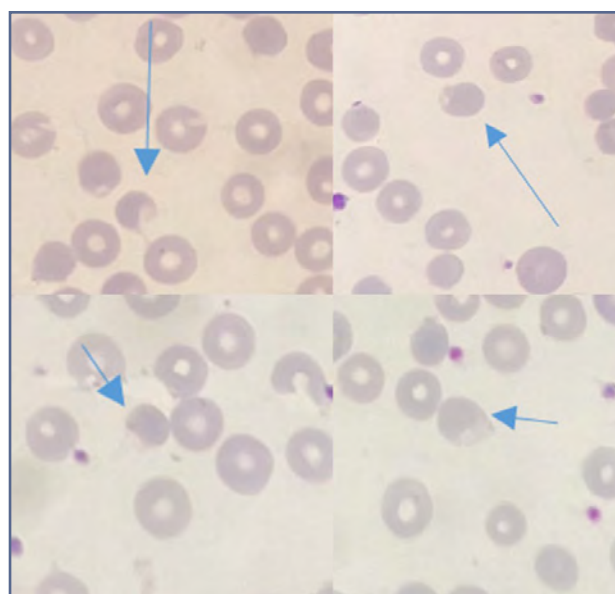
	Valor	Rango de normalidad
<b>Hemograma</b>		
Eritrocitos	2,45 $10^6/\mu\text{L}$	4,50-5,50
Hemoglobina	7,7 g/dL	13,0-17,0
Hematocrito	24,8 %	40,0-50,0
Volumen corpuscular medio	101,6 fL	83,0-101,0
Hb corpuscular media	31,4 pg	27,0-32,0
Concentración de Hb media	30,9 g/dL	32,0-36,0
Amplitud de distribución eritrocitaria	13,4 %	11,6-14,0
Leucocitos	14,68 $10^3/\mu\text{L}$	4,00-10,00
Plaquetas	275 $10^3/\mu\text{L}$	123-450
<b>Bioquímica</b>		
Glucosa	112 mg/dL	74-106
ALT	41 U/L	10-49
AST	37 U/L	0-34
Bilirrubina total	10,4 mg/dL	0,2-1,2
Bilirrubina directa	2,5 mg/dL	0,0-0,3
LDH	654 U/L	120-246
PCR	9,50 mg/dL	0,00-1,00
Creatinina	1,39 mg/dL	0,70-1,30
Urea	98 mg/dL	18-46

ALT: alanina aminotransferasa; AST: aspartato aminotransferasa; LDH: lactato deshidrogenasa; PCR: proteína C reactiva.

**Tabla II.**  
Valores analíticos del análisis complementario de rutina

	Valor	Rango de normalidad
<b>Reticulocitos</b>	2,97 %	0,10-2,00
<b>Ferritina</b>	3540,4 ng/mL	22-322
<b>Transferrina</b>	178 mg/dL	215-365
<b>Hierro (II + III)</b>	53 $\mu\text{g/mL}$	65-175
<b>Haptoglobina</b>	7,78 mg/dL	27,0-32,0
<b>Ácido fólico</b>	2,65 ng/mL	3,3-19

El paciente reconsultó en Urgencias al día siguiente y, tras una entrevista clínica dirigida, se observó que había ingerido habas 24 horas antes del inicio de los síntomas, a lo que se añade una historia familiar materna compatible con déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD). Además, el paciente refiere que en otras ocasiones había consumido habas,



**Figura 1** – Frotis de sangre periférica con presencia de excentrocytos (flechas azules). Imágenes del analizador hematológico CellaVision.

aunque en menor cuantía, sin haber presentado una sintomatología similar a la de este episodio.

Finalmente, tras la alta sospecha de fabismo, se solicitaron los niveles de actividad enzimática de G6PD, que resultaron ser  $< 35 \text{ mU}/10^9$  eritrocitos (valor normal:  $221\text{-}570 \text{ mU}/10^9$  eritrocitos), filiendo definitivamente el origen del cuadro.

## DISCUSIÓN

El fabismo es un síndrome hemolítico agudo que se produce en pacientes con deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa cuando ingieren habas. La deficiencia de G6PD es la enzimopatía adquirida de los glóbulos rojos más frecuente en el mundo, con 400 millones de personas afectadas. Esta enzima cataliza la primera reacción de la ruta de las "pentosas-fosfato", lo que genera nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH). Esta reacción es el principal mecanismo que tiene nuestro cuerpo para generar NADPH, cuya principal función es mantener el glutatión en su forma reducida, que cumple un papel esencial como agente reductor de especies oxidantes (1,2). Esto resulta especialmente importante en los eritrocitos, pues es la única ruta que tienen para producir NADPH y además tienen un alto nivel de estrés oxidativo.

Es una enfermedad que se produce por mutaciones con pérdida de función en el gen *G6PD* (hay descritas más de 217 mutaciones) y que está ligada al cromosoma X, por lo tanto, los hombres, que solo tienen una copia de este gen, la sufren con mayor prevalencia (3).

La OMS clasifica la deficiencia de G6PD en cinco grupos (4), según los niveles de actividad de la enzima y de la gravedad de la hemólisis. Además, también puede clasificarse según las mutaciones existentes en el gen *G6PD*, que varían en función de los grupos étnicos. Así, encontramos que la deficiencia de tipo mediterránea es una deficiencia de tipo II en la que existe una actividad de la enzima inferior al 10 % de su valor normal (4). Estos pacientes suelen presentar episodios hemolíticos intermitentes, normalmente desencadenados por ciertas sustancias, como las habas o algunos fármacos. Debido a esto, las manifestaciones clínicas y la gravedad de la hemólisis pueden variar y, por ello, el diagnóstico puede presentar algunas dificultades.

El diagnóstico final de esta patología se realiza a partir de la actividad de la enzima *G6PD*, por análisis espectrofotométrico de la formación de NADPH a partir de NADP<sup>+</sup>; sin embargo, la actividad enzimática varía

entre unos glóbulos rojos y otros (es mayor en las células más jóvenes). Esto puede ocasionar falsos negativos en episodios de hemólisis aguda debido al aumento de los reticulocitos (5).

En este caso, el paciente había consumido habas antes de presentar este episodio y no presentó ningún tipo de clínica compatible con la deficiencia de *G6PD*. Sin embargo, cuando consume una cantidad superior a la habitual presenta la sintomatología asociada a la patología y así es posible diagnosticar el cuadro.

Aunque la deficiencia de *G6PD* de tipo mediterránea es común y normalmente no es difícil de diagnosticar, presentamos este caso por el interés y la variabilidad de la anomalía, la posibilidad de encontrarlo en la práctica clínica diaria y lo destacamos por el importante papel del Laboratorio a la hora de diagnosticarlo.

## PUNTOS A RECORDAR

- Ante un test de Coombs negativo y evidencias de hemólisis, hay que valorar la posibilidad de déficit de *G6PD*, dada su relativa prevalencia en nuestro entorno.
- En la deficiencia de *G6PD* es característica la aparición de excentrocitos en el frotis de sangre periférica.
- Los niveles de actividad enzimática de *G6PD* están anormalmente aumentados en los episodios de hemólisis aguda, por lo que pueden producirse falsos negativos.
- Además de las habas, los episodios hemolíticos pueden desencadenarse por otras sustancias oxidantes o causas, por lo que es esencial informar al paciente sobre ello.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Luzzatto L, Nannelli C, Notaro R. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. *Hematol Oncol Clin North Am* 2016;30(2):373-93.
2. Cappellini MD, Fiorelli G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Lancet* 2008;371(9606):64-74.
3. Lee HY, Ithnin A, Azma RZ, et al. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency and Neonatal Hyperbilirubinemia: Insights on Pathophysiology, Diagnosis, and Gene Variants in Disease Heterogeneity. *Front Pediatr* 2022;10:875-7.
4. WHO. Bulletin of the World Health Organization 1989;67(6):601-11.
5. Roper D, Layton M, Rees D, et al. Laboratory diagnosis of G6PD deficiency. A British Society for Haematology Guideline. *Br J Haematol* 2020;189(1):24-38.



## Caso Clínico

# Lupus inducido por infliximab en paciente con enfermedad de Crohn

## *Infliximab-induced lupus in a patient with Crohn's disease*

*Kateryna Sidak, Adela Rodríguez Martín, Marta Barrionuevo González, Flor Álvarez Castellanos, José Manuel Gasalla Herráiz*

Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares, Madrid

**Recibido:** 04/02/2023  
**Aceptado:** 10/03/2023

**Correspondencia:** Kateryna Sidak. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Carretera de Alcalá, s/n. 28805 Alcalá de Henares, Madrid  
e-mail: [katrin080490@gmail.com](mailto:katrin080490@gmail.com)

### CASO CLÍNICO

Exponemos el caso de una mujer de 39 años diagnosticada de enfermedad de Crohn (EC) en tratamiento con infliximab 5 mg/kg intravenoso cada 6 semanas desde hace 3 años. La paciente acude a consulta por un cuadro de un mes de evolución de febrícula sin claro predominio horario, astenia intensa y poliartalgias, principalmente en carpos, muñecas, tobillos y rodillas. En la exploración presenta tumefacción y dolor articular, sin enrojecimiento ni lesiones cutáneas. En las pruebas complementarias en suero destacan: aspartato aminotransferasa (AST) 66 U/L (< 34 U/L), alanina aminotransferasa (ALT) 153 U/L (10-49 U/L), discreta hipergammaglobulinemia policlonal a expensas de inmunoglobulina G (1560 mg/dl; rango de referencia: 682-1266 mg/dL) e inmunoglobulina A (326 mg/dL; 84-269 mg/dL) y en los estudios de autoinmunidad se hallan anticuerpos anticelulares (ANA) positivos con patrón homogéneo (AC-1) a título 1/640 y anticuerpos antihistona positivos. El resto de los estudios realizados, que incluyen anticuerpos anti-ADN de doble cadena (an-

ti-ADN), anticuerpos nucleares extraíbles (ENA), fracciones C3 y C4 del complemento, anticuerpos anticardiolipinas, factor reumatoide (FR), anticuerpos antipeptidos cíclicos citrulinados (anti-CCP) y velocidad de sedimentación globular (VSG), fueron normales. Tampoco se observaron alteraciones hematológicas ni de función renal.

Anteriormente la paciente estuvo en tratamiento con azatioprina, que se suspendió por intolerancia, luego con adalimumab, pero al no notar ninguna mejoría se cambió por infliximab.

Entre los diagnósticos diferenciales planteados se consideraron lupus eritematoso sistémico (LES), lupus inducido por fármacos (LIF), artritis reumatoide (AR) y enfermedad mixta del tejido conectivo (EMTC).

La AR, como la mayoría de las enfermedades reumatológicas, es más frecuente en mujeres, afecta a articulaciones periféricas de forma simétrica, se caracteriza por dolor, rigidez matutina, tumefacción, sensibilidad anormal de las articulaciones afectadas, FR y anti-CCP positivos. En la EMTC es característica la presencia del fenómeno de Raynaud, artralgiás, mialgiás, artritis,

*Conflicto de interés: los autores declaran no tener conflicto de interés.*

DOI: 10.20960/revmedlab.00165

Sidak K, Rodríguez Martín A, Barrionuevo González M, Álvarez Castellanos F, Gasalla Herráiz JM. Lupus inducido por infliximab en paciente con enfermedad de Crohn. Rev Med Lab 2023;4(2):75-78

debilidad muscular, esclerodactilia, edema en manos, *rash* facial y positividad de anti-U1-ribonucleoproteína (anti-U1RNP). Los pacientes con LES tienen afectación cutánea y renal, artritis, serositis, alteraciones neurológicas, hematológicas y positividad de ANA, anti-ADN y anti-Sm (anti-Smith). Manifestaciones clínicas de LIF, dependiendo de la forma, abarcan desde afectación cutánea limitada hasta afectación sistémica, que suele ser más leve que en LES, aparición de los síntomas después de la exposición al fármaco y positividad de ANA y anticuerpos antihistona.

En estos casos los anticuerpos son de gran ayuda para hacer un diagnóstico diferencial entre distintas enfermedades autoinmunes.

En nuestra paciente la presencia de poliartalgias, la ausencia de lesiones cutáneas, la asociación con la ingesta del fármaco, la positividad de ANA y los anticuerpos antihistona nos llevaron a considerar diagnóstico de LIF como el más probable, se retiró infliximab y se adoptó una actitud expectante. Tres meses después los síntomas habían remitido casi por completo y queda pendiente una nueva determinación de anticuerpos en unos meses para verificar su negativización.

## DISCUSIÓN

LIF es un síndrome *lupus-like* que se presenta tras la exposición a ciertos fármacos y desaparece gradualmente tras su retirada (1). Los fármacos que se han relacionado con su desarrollo son: isoniácida, hidralazina, procainamida, etanercept, infliximab, adalimumab, minociclina, etc. (1).

Existen tres formas de LIF: sistémica, cutánea subaguda y cutánea crónica.

La forma sistémica involucra a diferentes órganos. Sus manifestaciones predominantes son artralgias, mialgias, malestar general, fiebre, pérdida de peso y artritis, que suele ser simétrica, no deformante y afecta sobre todo a pequeñas articulaciones de las manos (1). Las manifestaciones mucocutáneas clásicas de LES son raras. Pleuritis, pericarditis y hepatoesplenomegalia son presentaciones bastante frecuentes (2). La afectación renal y del sistema nervioso suele ser rara en el LIF (1). Entre los hallazgos de laboratorio se destaca aumento de la VSG, que se presenta en el 80 % de los casos (2). Las manifestaciones hematológicas, como leucopenia, anemia y trombocitopenia, son menos frecuentes. La hipocomplementemia es rara, excepto en casos relacionados con factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), penicilamina y quinidina (1,2). El patrón de inmunofluorescencia, que se presenta con más frecuencia, es el AC-1, aunque también es posible encontrar otros, como nuclear granular (AC-4/5) o nucleolar (AC-8/9/10) (1,2). Los anticuerpos antihistona son muy típicos. Los anticuerpos anti-ADN son raros en el LIF y se presentan con el uso de fármacos TNF- $\alpha$  y minociclina (1,2).

La forma cutánea subaguda se manifiesta con una erupción cutánea localizada en zonas fotoexpuestas,

como la cara, el escote y la cara extensora de los brazos. Se caracteriza por lesiones descamativas con patrón papuloescamoso o anular, aunque las lesiones pueden ser más diseminadas y extenderse a áreas no fotoexpuestas. Suelen curarse en semanas o meses sin dejar cicatriz (1,3). Puede presentarse con ANA, anticuerpos antihistona, anti-SSA/Ro (anticuerpos anti síndrome de Sjögren A) y anti-SSB/La (anticuerpos anti síndrome de Sjögren B) positivos (3).

La forma cutánea crónica es rara y se relaciona con exposición a los compuestos de fluorouracilo (3). Se manifiesta con lesiones discoides cutáneas en zonas fotoexpuestas (1). En formas cutáneas las manifestaciones sistémicas suelen estar ausentes.

Existen varias clasificaciones de fármacos inductores de LIF. Una de ellas los divide en tres categorías:

- Primera. Fármacos que tienen una clara relación con LIF, como: hidralazina, procainamida, isoniácida o quinidina.
- Segunda. Fármacos que potencialmente pueden causar LIF, como: anticonvulsivantes, antitiroideos, D-penicilamina, sulfasalazina o diuréticos tiazídicos.
- Tercera. Fármacos descritos en la literatura como causantes de algún caso de LIF, como: minociclina, infliximab o amiodarona (1,4).

La otra clasificación los agrupa en cuatro categorías: de riesgo alto, moderado, bajo y muy bajo (1,4) (Tabla I).

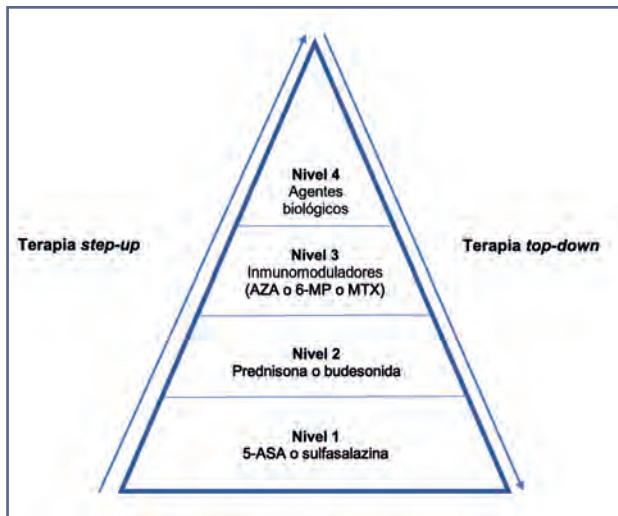
Hay dos esquemas de tratamiento de EC: uno se llama terapia *step-up* o esquema clásico, que consiste en empezar por salicilatos e ir subiendo hasta agentes biológicos en caso de necesidad, y el otro, terapia *top-down*: se empieza por agentes biológicos o inmunomoduladores y va bajándose hasta salicilatos (5) (Fig. 1). La terapia *top-down* debe considerarse para pacientes con enfermedad complicada, extensa con curso agresivo o presencia de factores pronósticos de mala evolución, como diagnóstico a la edad pediátrica, brotes recurrentes o corticorresistentes (5).

Entre los tratamientos con mejores resultados se encuentran: vedolizumab y ustekinumab. Ambos se utilizan en pacientes que hayan tenido una respuesta inadecuada, pérdida de respuesta o sean intolerantes al tratamiento convencional o con anti-TNF- $\alpha$  (6).

En 2021 Sedano y cols. publicaron el primer caso de LIF inducido por vedolizumab, un antagonista de la integrina selectivo a nivel intestinal sin actividad inmunosupresora sistémica que se utiliza para el tratamiento de colitis ulcerosa y EC (7). El paciente descrito es un varón de 73 años con EC tratado con vedolizumab que presentaba disnea y la tomografía computarizada de tórax mostró imagen de vidrio deslustrado bilateral y opacidades con engrosamiento interlobulillar. En la analítica destacaba la presencia de anticuerpos antihistona positivos. Se le diagnosticó de LIF y, después de retirar el tratamiento, los síntomas y los hallazgos pulmonares desaparecieron (7).

El ustekinumab es un anticuerpo monoclonal que inhibe la actividad de las citocinas humanas IL-12 y IL-23

Fármacos	Alto riesgo	Riesgo moderado	Bajo riesgo	Riesgo muy bajo
	Procainamida	Quinidina	Captopril	Disopiramida
	Hidralazina	Sulfasalazina	Metildopa	Clonidina
		Isoniacida	Clorpromacina	Enalapril
			Minociclina	Labetalol
			Carbamazepina	Minoxidil
			Propiltiouracilo	Atenolol
			D-penicilamina	Nitrofurantoína
			Sulfonamida	Fenitoína
			5-aminosalicilato	Primidona
				Hidroclorotiazida
				Atorvastatina
				Simvastatina
				Etanercept
				Infliximab
				Adalimumab
				IFN- $\alpha$
				Levodopa



**Figura 1** – Pirámide terapéutica. Adaptada de: Tsui JJ, Huynh HQ. Is top-down therapy a more effective alternative to conventional step-up therapy for Crohn's disease? *Ann Gastroenterol* 2018;31:413-24. 5-ASA: ácido 5-aminosalicílico; AZA: azatioprina; 6-MP: 6-mercaptopurina; MTX: metotrexato.

al impedir la unión con su proteína receptora (6). Tierney y cols. describieron un caso de lupus cutáneo subagudo inducido por ustekinumab en una mujer de 68 años que padecía psoriasis. Después de una segunda dosis se manifestaron lesiones descamativas con patrón anular y fuerte picor (8). En la analítica destacaban ANA positivos con patrón nuclear granular a título 1:1200, anti-SSA/Ro, anti-SSB/La y anti-Jo1 (anti-histi-

dil-tRNA sintetasa) positivos. Después de retirar el tratamiento los síntomas remitieron.

El infliximab fue el primer agente biológico aprobado para el tratamiento de pacientes con EC y posteriormente también se aprobó para tratamiento de AR (9). Es un anticuerpo monoclonal quimérico de origen humano y murino, dirigido contra TNF- $\alpha$ , que se administra por vía intravenosa. Este medicamento puede causar reacciones adversas agudas, que aparecen durante su administración o en las siguientes 24 horas, tales como prurito, edema, urticaria, hipo- e hipertensión, bradi- y taquicardia, cefaleas, fiebre o *shock* anafiláctico (10). Las reacciones tardías, a su vez, se presentan desde 24 horas y hasta 14 días después de su administración y suelen ser: artralgias, mialgias, urticaria, erupciones, fiebre o cefaleas (10). La mayoría de estas reacciones aparece durante la primera semana de tratamiento (9). Muchas de ellas están asociadas a títulos bajos de anticuerpos antiinfliximab, que son menos frecuentes en pacientes con terapia concomitante con inmunosupresores como corticoides, metotrexato o azatioprina (9). Los pacientes tratados con infliximab desarrollan una respuesta autoinmune con producción de ANA, anti-ADN y anticardiolipinas, pero no todos ellos a posteriori desarrollan LIF.

En el caso de nuestra paciente, después de tres años de tratamiento con infliximab desarrolló LIF, que se confirmó con la clínica, la exposición al fármaco y la presencia de anticuerpos antihistona positivos.

Si fuera necesario instaurar un tratamiento en nuestra paciente podría considerarse la terapia *top-down* o incluso los agentes biológicos como vedolizumab o ustekinumab.

## PUNTOS A RECORDAR

- LIF es un síndrome lupus-like, que se relaciona con exposición a ciertos fármacos y desaparece tras su retirada.
- Fármacos implicados en el desarrollo de LIF son: isoniacida, hidralacina, procainamida, etanercept, infliximab y adalimumab.
- Las manifestaciones clínicas más frecuentes de LIF son: artralgias, mialgias, malestar general, pérdida de peso y artritis.
- Los hallazgos de laboratorio más frecuentes son aumento de la VSG, anticuerpos antihistona positivos, ANAs positivos con patrones AC-1, AC-4/5 o AC-8/9/10.
- Aunque los pacientes tratados con infliximab producen ANA, su sola presencia no significa que el paciente vaya a desarrollar LIF en un futuro.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Pretel M, Marqués L, España A. Lupus inducido por fármacos. *Actas Dermosifiliogr* 2014; 105:18-30
2. Aguirre Zamorano MA, López Pedrera R, Cuadrado Lozano MJ. Lupus inducido por fármacos. *Med Clin* 2010; 135:124-9.
3. Katz U, Zandman-Goddard G. Drug-induced lupus: an update. *Autoimmun Rev* 2010;10:46-50.
4. He Y, Sawalha AH. Drug-induced lupus erythematosus: an update on drugs and mechanisms. *Curr Opin Rheumatol* 2018;30:490-7.
5. Tsui JJ, Huynh HQ. Is top-down therapy a more effective alternative to conventional step-up therapy for Crohn's disease? *Ann Gastroenterol* 2018;31:413-24.
6. Biemans VBC, van der Woude CJ, Dijkstra G, et al. Dutch Initiative on Crohn and Colitis (ICC). Ustekinumab is associated with superior effectiveness outcomes compared to vedolizumab in Crohn's disease patients with prior failure to anti-TNF treatment. *Aliment Pharmacol Ther* 2020; 52:123-34.
7. Sedano R, Dhaliwal I, Ramsewak D, et al. Drug-induced Lupus Associated with Vedolizumab in a Patient with Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis* 2021;27:e47-8.
8. Tierney E, Kirthi S, Ramsay B, et al. Ustekinumab-induced subacute cutaneous lupus. *JAAD Case Rep* 2019;5:271-3.
9. Klapman JB, Ene-Stroescu D, Becker MA, et al. A lupus-like syndrome associated with infliximab therapy. *Inflamm Bowel Dis* 2003;9:176-8.
10. Pérez-Zafrilla B, Ángel Descalzo M, Carmona L; y Grupo de Estudio BIOBADASER. Reacciones adversas relacionadas con la administración de inhibidores del TNF. Análisis de un registro de terapias biológicas. *Reumatol Clin* 2008;4:90-5.



## Caso Clínico

# Choriocarcinoma with hyperthyroidism mediated by hCG

## *Coriocarcinoma con hipertiroidismo mediado por hCG*

Paulo Dias Silva<sup>1</sup>, Sara Gil-Santos<sup>2</sup>, Carlos Oliveira<sup>1</sup>, Isabel Inácio<sup>2</sup>, Nuno Gonçalves<sup>1</sup>

Departments of <sup>1</sup>Clinical Pathology and <sup>2</sup>Endocrinology. Instituto Português de Oncologia do Porto (IPO). Porto, Portugal

**Received:** 08/02/2023

**Accepted:** 11/04/2023

**Correspondence:** Paulo Dias Silva. Department of Clinical Pathology. Instituto Português de Oncologia do Porto (IPO). Rua Dr. António Bernardino de Almeida. 4200-072 Porto, Portugal  
e-mail: paulo.o.silva@ipporto.min-saude.pt

### CASE REPORT

We present a case of a man in the early 30's, with a history of cryptorchidism and orchidopexy in infancy and a euthyroid thyroid nodule, presented with nausea, constipation, and abdominal pain. An abdominal radiography showed no abnormalities. One month later, after multiple visits to the emergency room, an abdominal computed tomography was performed, that showed a retroperitoneal mass of 90 × 77 × 72 mm, and multiple bilateral pulmonary nodules. Laboratory results showed pancytopenia with neutropenia and human chorionic gonadotropin (hCG) levels of 144,690 mIU/mL (reference value: < 2.5). A testicular ultrasound showed no abnormalities. The patient was admitted with a presumptive diagnosis of extragonadal choriocarcinoma with pulmonary metastases and treatment was started with corticotherapy and chemotherapy, with a regimen of bleomycin, etoposide and platinum (BEP).

Approximately a week later, the patient presented with respiratory insufficiency and haemoptysis, secondary to haemorrhagic pulmonary metastasis. He was admitted to the intensive care unit for ventilatory support, and corticotherapy dose was increased. Because of the pulmonary toxicity related to bleomycin, he was started on a different chemotherapy regimen with etoposide, ifosfamide and cisplatin (VIP). During the course of treatment, the patient presented with periods of sinus tachycardia and subfebrile temperature. On the ninth day of chemotherapy, bloodwork showed maximum hCG levels of 590,399 mIU/mL. Blood count still showed pancytopenia with neutropenia and thyroid function showed: free thyroxine (fT4) 7.77 (0.80-1.67) ng/dL, free triiodothyronine (fT3) 18.5 (2.00-4.40) pg/mL thyroid stimulating hormone (TSH) < 0.005 (0.270-4.200) uIU/mL. The patient was already on methylprednisolone 80 mg/day and was started on methimazole 25 mg/day. Later results showed negative anti-thyroid stimulating hormone (TSH) receptor,

*Conflicts of interest: the authors declare no conflicts of interests.*

Dias Silva P, Gil-Santos S, Oliveira C, Inácio I, Gonçalves N. Choriocarcinoma with hyperthyroidism mediated by hCG. Rev Med Lab 2023;4(2):79-81

DOI: 10.20960/revmedlab.00168



anti-thyroglobulin and anti-thyroid peroxidase antibodies.

The patient continued treatment, with a favourable response: on the twenty-first day of chemotherapy, hCG levels dropped to 25,656 mIU/mL, pancytopenia and neutropenia improved, and thyroid function showed FT4 levels of 3.74 ng/dL and FT3 levels of 4.70 pg/mL. The patient was later discharged with prednisolone 40 mg/day, with a tapering protocol, methimazole 40 mg/day and propranolol 20 mg/day, with an additional 20 mg/day as needed. Approximately 3 months later, the patient is still on chemotherapy and methimazole 35 mg/day, thyroid function has improved, as shown in table I, and hCG levels have significantly decreased (58.9 mIU/mL).

## DISCUSSION

Hyperthyroidism secondary to excessive production of hCG is a rare condition. We describe a case of a male patient diagnosed with choriocarcinoma, who developed hyperthyroidism in this context.

Choriocarcinoma, a non-seminomatous germ cell neoplasm, can be gestational or non-gestational. Non-gestational (or extragonadal) choriocarcinomas are a rare malignancy in men, representing only 5 % of germ cell tumours, and are usually highly invasive with a poor prognosis (1,2). These tumours typically present with very high serum levels of hCG. The structural similarity of this glycoprotein to the TSH may lead to its binding to TSH receptors, resulting in hyperthyroidism.

Similar to luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH) and TSH, hCG is a glycoprotein made up of two subunits: alpha and beta. All of them share the same amino acid sequence in their alpha subunit, and it's their beta subunit that carries specific information which determines their binding to specific hormonal receptors. However, hCG and TSH's beta chains also share some similarities: they both contain 12 half-cysteine residues and one N-linked

oligosaccharide, and there is a cysteine structure identical in both hormones (3). These similarities may justify the ability of hCG to cross react with the TSH receptor found in several studies (3,4), which in turn leads to the paraneoplastic hyperthyroidism reported in this case.

hCG is normally produced in placental trophoblastic cells. The action of hCG is similar to that of LH because it also stimulates the *corpus luteum* to produce progesterone that helps maintain pregnancy by preventing menstruation (5). In non-pregnant woman or in man, it can be elevated in conditions such as germ cell tumours and gestational trophoblastic disease (6). In 40 % to 60 % of men with testicular carcinoma, this hormone may be elevated, and the detection of serum hCG in extremely high amounts is often associated with invasive disease (5,7). In the case of choriocarcinoma, cell growth, blockage of apoptosis and production of invasive enzymes such as collagenases and metalloproteinases are mediated by hCG (1). In our laboratory, the measurement of hCG is performed by an electrochemiluminescence immunoassay which uses a pair of monoclonal antibodies to quantify this molecule.

Serum hCG, given its structural similarity to TSH, has been proven to have weak thyroid stimulating activity. During pregnancy, TSH levels drop when hCG levels are at their peak, and in women with hydatidiform moles or trophoblastic cancer, in which hCG levels are elevated, hyperthyroidism is a well-known phenomenon (7). Although there is no well-defined cut-off of the value at which hCG influences thyroid function, reports suggest that when hCG levels are above 50,000 mIU/mL, thyroid function should be monitored, regardless of the cause of hCG excess (7).

When the patient started chemotherapy, hCG rose to a maximum value of 590,399 mIU/mL (table I, 10th day). This phenomenon is described in other reports (7) as a result of tumour cell destruction and release of intercellular molecules into the blood stream. Consequently, the significant increase in thyroid hormones, with simultaneous symptoms of hyperthyroidism,

**Table I.**  
Progression of hormonal values since the first day of diagnosis

	Day 1	Day 10	Day 19	Day 21	Day 41	Day 83
<b>hCG</b> R.V.: < 2,5 mIU/mL	144,960.0	590,399.0	42,995.0	25,656.0	3,276.0	58.90
<b>FT3</b> R.V.: 2,00-4,40 pg/mL	-	18.50	2.66	2.58	2.07	3.15
<b>FT4</b> R.V.: 0,80-1,67 ng/dL	-	> 7.77	3.00	2.47	1.15	1.20
<b>TSH</b> R.V.: 0,270-4,200 uIU/mL	-	< 0.005	< 0.005	< 0.005	0.029	0.216

R.V.: reference value; hCG: human chorionic gonadotropin; FT3: free triiodothyronine; FT4: free thyroxine; TSH: thyroid stimulating hormone.

motivated the implementation of methimazole. hCG values later dropped (from 590,399 to 58.90 mIU/mL), with concomitant decrease in fT3 and fT4 values, with clinical improvement.

Hyperthyroidism symptoms can be difficult to recognize in patients with this type of malignancy and paraneoplastic syndromes - symptoms like fatigue and weight loss overlap with those of metastatic disease. Given this, the laboratory must play an active role in the interpretation of the results, and add other parameters if deemed appropriate, in order to bring the best possible follow-up to the patient. The introduction of antithyroid drugs in this case allowed the patient to better tolerate the chemotherapy treatments. Simultaneous measurement of hCG and fT3 and fT4 values seems to be useful in monitoring the effectiveness of the treatment (5).

### POINTS TO REMEMBER

- Choriocarcinoma is a rare neoplasm whose diagnosis is characterized by elevated hCG.
- There are reports of hyperthyroidism due to a considerable increase in hCG.

- It is important to be aware of paraneoplastic hyperthyroidism in choriocarcinoma.
- Antithyroid drug treatment appears to be of benefit to patients during chemotherapy for choriocarcinoma.

### REFERENCES

1. Michalski W, Poniatowska GM, Jońska-Gmyrek JG, et al. HCG-secreting malignancies-diagnostic pitfalls. *Oncol Clin Pract* 2020;15(6):331-5.
2. Qiu Z, Wu Y, Wang Y, et al. Male primary mediastinal choriocarcinoma with diffuse metastases. *Medicine* 2019;98(28).
3. Sotello D, Rivas AM, Test VJ, et al. Choriocarcinoma presenting with thyrotoxicosis. *Baylor University Medical Center Proceedings* 2016;29(1):42-3.
4. Hussain H, Eck LM. hCG Induced Hyperthyroidism Due to a Metastatic Germ Cell Tumor. *Kansas J Med* 2012;5(2):58-61.
5. Kaplan A, Jack R, Opheim K, et al. *Clinical Chemistry: Interpretation and Techniques*. 4th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1995.
6. Marcillac I, Troalen F, Bidart JM, et al. Free human chorionic gonadotropin beta subunit in gonadal and nongonadal neoplasms. *Cancer Res* 1992;52(14):3901-7.
7. Oosting SF, de Haas EC, Links TP, et al. Prevalence of paraneoplastic hyperthyroidism in patients with metastatic non-seminomatous germ-cell tumors. *Ann Oncol* 2010;21(1):104-8.



## Imagen/Infografía

# Cristales verdes en neutrófilos de paciente hematológico

## *Green crystals in neutrophils of a hematological patient*

Marta Capilla Díez<sup>1</sup>, Sara Yolanda Urrutia Rodríguez<sup>2</sup>

Laboratorios de <sup>1</sup>Análisis Clínicos y de <sup>2</sup>Hematología. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid

**Recibido:** 15/12/2022  
**Aceptado:** 20/06/2023

**Correspondencia:** Marta Capilla Díez. Laboratorio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Río Hortega. C/ Dulzaina, 2. 47012 Valladolid  
e-mail: martacapilla90@gmail.com

## INTRODUCCIÓN

Los cristales verdes “de la muerte” son inclusiones refringentes de color azul-verdoso que pueden encontrarse en el citoplasma de neutrófilos y monocitos (1-2 %) (1-5). Pueden pasar desapercibidos y no deben confundirse con cuerpos Döhle, que no presentan refringencia (1,3-5).

Su origen no está claramente definido, pero su composición parece deberse a acúmulos de lipofucsina, biliverdina o a productos de degradación lisosomal fagocitados por neutrófilos y monocitos (1-4).

Se han descrito relacionados con fallo hepático agudo, elevación de ALT, AST, lactato y LDH, aunque se han notificado casos sin elevación de enzimas hepáticas (1-5).

También se han descrito en relación con *shock* séptico por *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Clostridium difficile* e infección por SARS-CoV-2 (2-5).

Su presencia se ha relacionado con riesgo aumentado de mortalidad a corto plazo (entre 48 y 72 horas) (1-5).

## CASO CLÍNICO

Se presenta el caso de una mujer de 76 años con antecedentes personales de carcinoma de ovario y síndrome mielodisplásico tipo citopenia refractaria con displasia multilínea.

Ingresa desde el Servicio de Urgencias por astenia, equimosis en extremidades inferiores y fiebre asociada a una PCR positiva por SARS-CoV-2.

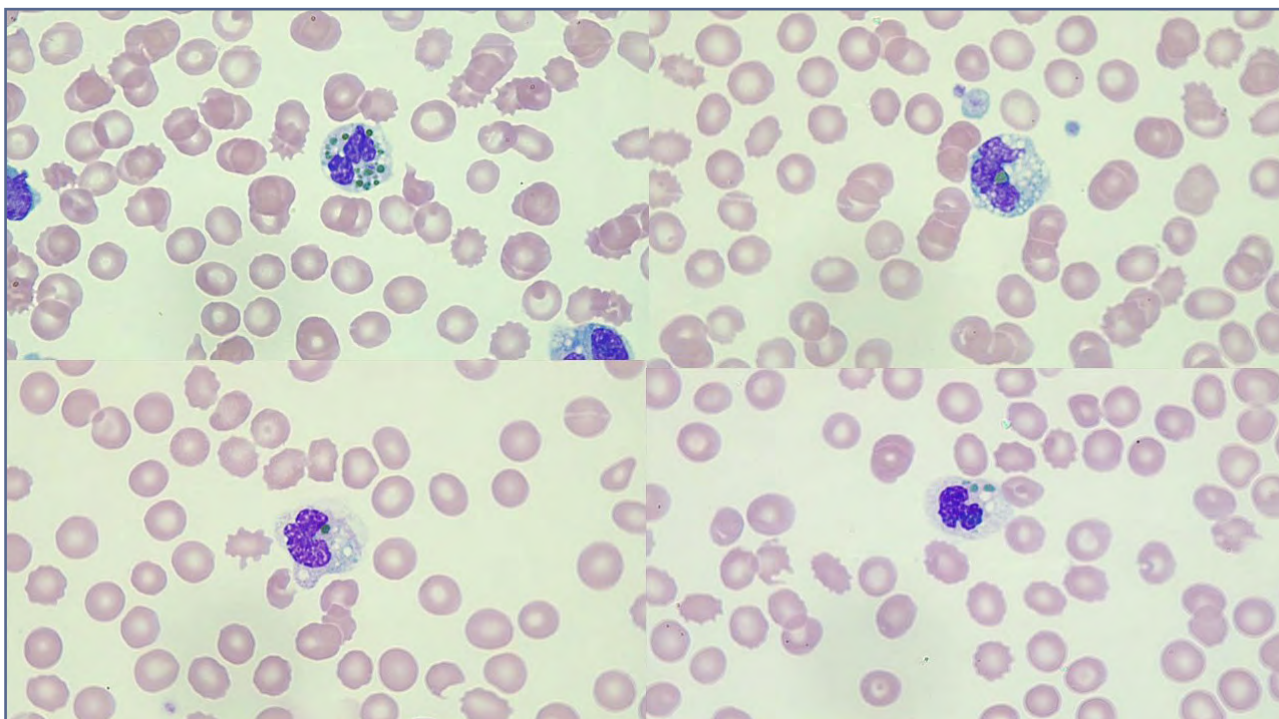
En la analítica presenta leucocitosis neutrofílica, anemia normocítica y trombopenia severas; elevación de PCR, LDH y lactato, con normalidad de enzimas hepáticas.

Se realiza frotis de sangre periférica con tinción de Wright para descartar la presencia de blastos y posible transformación a leucemia. Se observa displasia llamativa de la serie blanca, con granulaciones verde-azuladas en el citoplasma de los neutrófilos (2 %) (Fig. 1).

Conflicto de intereses: las autoras declaran no tener ningún conflicto de intereses.

DOI: 10.20960/revmedlab.00162

Capilla Díez M, Urrutia Rodríguez SY. Cristales verdes en neutrófilos de paciente hematológico. Rev Med Lab 2023;4(2):82-83



**Figura 1** – Neutrófilos con inclusiones verdes en el citoplasma.

Cuarenta y ocho horas después fallece por deterioro del estado general y sepsis de origen urinario por *Escherichia coli* BLEE, con parada cardiorrespiratoria.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Gorup T, Cohen AT, Sybenga AB, Rappaport ES. Significance of green granules in neutrophils and monocytes. *Proc (Bayl Univ Med Cent)* 2017;31(1):94-6.
2. Soos MP, Heideman C, Shumway C, Cho M, Woolf A, Kumar C. Blue-green neutrophilic inclusion bodies in the critically ill patient. *Clin Case Rep* 2019;7(6):1249-52. DOI: 10.1002/ccr3.2196
3. Hodgson TO, Ruskova A, Shugg CJ, McCallum VJ, Morison IM. Green neutrophil and monocyte inclusions – time to acknowledge and report. *H J Haematol* 2015;170(2):229-35. DOI: 10.1111/bjh.13434
4. Courville EL, Crisman S, Linden MA, Yohe S. Green neutrophilic inclusions are frequently associated with liver injury and may portend short-term mortality in critically ill patients. *Lab Med* 2017;48(1):18-23. DOI: 10.1093/labmed/lmw064
5. Cantu MD, Towne WS, Emmons FN, Mostyka M, Borczuk A, Salvatore SP, et al. Clinical significance of blue-green neutrophil and monocyte cytoplasmic inclusions in SARS-CoV-2 positive critically ill patients. *Brit J Haematol* 2020;190:e57-e94. DOI: 10.1111/bjh.16882

